

REMARKS

Further and favorable reconsideration is respectfully requested in view of the foregoing amendments and following remarks.

Specification Amendments

The specification has been amended on page 3, line 11 and page 14, line 10 to replace “dextrinase” with “dextrinase”.

Additionally, the specification has been amended on page 18, line 16, page 19, line 4 and page 20, line 25 to replace the term “gumi” with the intended phrase, “a gumdrop-like preparation”.

No new matter has been added to the application by these amendments.

Claim Amendments

Claims 2-9, 11-15 and 18-22 have been amended to replace the indefinite article “A” of the beginning of each dependent claim with definite article “The”.

Claims 11-1 and 18-22 have been amended to delete descriptions regarding the prevention of diseases.

In order to clarify the descriptions, the phrase “a symptom of” has been added before the names of the diseases “diabetes”, “hypertension” and “hepatitis”, in claims 12, 14, 18, 20 and 22. The treatment in these claims is intended to be treatment of a symptom.

Further, claim 15 has been amended to recite “(a) the hyperlipidemic agent and (b) the α -glucosidase inhibitor”, in accordance with the Examiner’s suggestion.

Objection to the Specification

The objection to the specification has been rendered moot in view of the above-discussed amendments to the specification.

Objection to the Claims

The objection to the claims has been rendered moot in view of the above-discussed claim amendments.

Applicants note that the Examiner has included claims 16 and 17 in the objection to the claims. However, these claims are independent claims, and thus properly begin with the article “A”.

Rejection of Claims Under 35 U.S.C. § 112, Second Paragraph

The rejection of claims 12, 14, 20 and 22 as being indefinite under 35 U.S.C. § 112, second paragraph is rendered moot in view of the above-discussed claim amendments. Specifically, as discussed above, the rejected claims have been amended to recite “a symptom of “ before “diabetes”, “hypertension” and “hepatitis”, as the treatment in these claims is intended to be the treatment of a symptom. Accordingly, this rejection is no longer tenable and should be withdrawn.

Rejection of Claims Under 35 U.S.C. § 112, First Paragraph

The rejection of claims 11-14 and 19-22 under 35 U.S.C. § 112, first paragraph has been rendered moot in view of the claim amendments. Specifically, descriptions regarding prevention have been deleted from the claims. Accordingly, this rejection is no longer tenable and should be withdrawn.

Patentability Arguments

The patentability of the present invention over the disclosure of the reference relied upon by the Examiner in rejecting the claims will be apparent upon consideration of the following remarks.

Rejection Under 35 U.S.C. §103(a)

The rejection of claims 1-3, 6-17 and 19-22 under 35 U.S.C. § 103(a) as being unpatentable over Bussolari et al. (U.S. 2003/0045553) is respectfully traversed.

The Examiner's Position

The Examiner takes the position that Bussolari et al. disclose a composition for administering one or more glucose reabsorption inhibitor and one or more PPAR modulator for the treatment of diabetes of Syndrome X. The Examiner asserts that Bussolari et al. disclose the specific PPAR modulator fenofibrate, and the specific α -glucosidase inhibitor voglibose.

The Examiner admits that Bussolari et al. fail to specifically disclose the combination of fenofibrate and voglibose. The Examiner takes the position that it would have been obvious to one of ordinary skill in the art at the time of the invention to practice the invention of Bussolari et al. as the specific combination of fenofibrate and voglibose.

Applicants' Arguments

Bussolari et al. disclose a method for treating diabetes, Syndrome X, or associated symptoms or complications in a subject, said method comprising (a) administering to said subject a jointly effective amount of a glucose reabsorption inhibitor; and (b) administering to said subject a jointly effective amount of a PPAR modulator, said co-administration being in any order and the combined jointly effective amounts providing the desired therapeutic effect (claim 1).

As the PPAR modulator, fenofibrate is exemplified with other various compounds (paragraphs [0104]-[0140]).

Bussolari et al. disclose that antidiabetic agents that can be used as a third antidiabetic agent (paragraph [0143]). As the third antidiabetic agent, Bussolari et al.

exemplify (A) Retinoid-X receptor modulators, (B) other insulin sensitizing agents, (C) biguanides, (D) alpha-glucosidase inhibitors, (E) insulins, (F) insulin secretion modulators, (G) insulin secretagogues, (H) growth factors, (I) immunomodulators and (J) other antidiabetic agents such as rHu-Glucagon and DHEA analogs (paragraphs [0144]-[0298]). As the biguanides (C), metformin is exemplified and voglibose is exemplified as the alpha-glucosidase inhibitors (D) with other various examples (paragraphs [0209] and [0219]).

Regarding the glucose reabsorption inhibitor, Bussolari et al. disclose that one method of treating hyperglycemia is to excrete excessive glucose directly into urine so that the blood glucose concentration is normalized and that for example, sodium-glucose cotransporters (SGLTs), primarily found in chorionic membrane of the intestine and the kidney, are a family of proteins actively involved in the normal process of glucose absorption (paragraph [0072]). Bussolari et al. also disclose that renal reabsorption of glucose is mediated by SGLT1 and SGLT2 (Silverman et al., 1992; Deetjen et al., 1995) and plasma glucose is filtered in the glomerulus and is transepithelially reabsorbed in the proximal tubules, and that therefore, inhibition of SGLTs reduces plasma glucose through suppression of glucose reabsorption in the kidney (paragraph [0073]). Bussolari et al. discloses that preferably, the glucose reabsorption inhibitor is selected from T-1095 and T-1095A (paragraph [0316]).

Regarding the effects of the invention, Bussolari et al. disclose as follows:

“The invention features a combination therapy method comprising administering a glucose reabsorption inhibitor, such as an SGLT inhibitor, and administering a PPAR modulator for the treatment of diabetes or Syndrome X, or associated symptoms or complications thereof. The demonstrated efficacy of SGLT inhibitors in numerous models of NIDDM validates the utility of this drug alone for the treatment of NIDDM in humans. Since glucose reabsorption inhibitors have a mechanism of action distinct from that of PPAR modulators, the disclosed combination with PPAR modulators has the

advantage of reducing the amount of either drug necessary to achieve combined therapeutic or pharmaceutical efficacy, relative to the use of either drug alone, thereby reducing one or more adverse side-effects, which often include weight gain, edema, cardiac hypertrophy, hepatohypertrophy, hypoglycemia, or hepatotoxicity, or any combination thereof" ([0301]).

Comparison of the present invention with the cited reference

Structure of the invention

(i) Combination of a fibrate compound with an α -glucosidase inhibitor

Bussolari et al. fail to disclose or suggest a specific combination of a fibrate compound with an α -glucosidase inhibitor, as admitted by the Examiner.

Bussolari et al. indubitably exemplify α -glucosidase inhibitors such as voglibose. However, the α -glucosidase inhibitors are exemplified by Bussolari et al. as the same rank or level as many other antidiabetic agents such as RXR modulators, insulin sensitizing agents, biguanides (e.g., Metformin) etc., which have different mechanisms of action, as an additional component. Thus, the combination of the fibrate compound with the α -glucosidase inhibitor would never be predicted from the teachings of Bussolari et al.

(ii) Mechanism of action of the inhibitors

The Examiner mentions that the action of the α -glucosidase inhibitor voglibose results in an inhibition of glucose reabsorption, and voglibose is a glucose reabsorption inhibitor and that it would have been simple substitution of one known element for another to obtain predictable results to use the glucose reabsorption inhibitor voglibose and the PPAR modulator fenofibrate.

However, the α -glucosidase inhibitor does not belong to the category of the

glucose reabsorption inhibitor, because of the difference of action of the inhibitors, as shown below:

As apparent from paragraphs [0072] and [0073] of Bussolari et al., glucose is reabsorbed in the kidney, normally, by being mediated with SGLT1 and SGLT2, and the action of the glucose reabsorption inhibitor is to inhibit the reabsorption of glucose by inhibiting SGLT in the kidney. That is, it can be said that Bussolari et al. intend to use an inhibitor of SGLT as the glucose reabsorption inhibitor. This is also consistent with the description of Bussolari et al. that the preferred glucose reabsorption inhibitor, T-1095A (and T-1095) is a selective and potent inhibitor of SGLT (see paragraph [0317]) and based on the description of another document, British Journal of Pharmacology (2001) 132, 578-589 (enclosed document A).

Moreover, it is known that the SGLT inhibitor aims to inhibit reabsorption of glucose excess in a living body to discharge the excess of glucose from the body (see enclosed document B (ai Report 2004, published on October 1, 2005), page 1106, line 20 to page 1107, line 2 and partial English translation thereof). Thus, Bussolari et al. apparently intend to use the glucose reabsorption inhibitor for the purpose of inhibiting reabsorption of glucose via the SGLT at the kidney like the action mechanisms of T-1095 and so on.

On the other hand, the action of the α -glucosidase inhibitor is to inhibit a digestive enzyme such as an amylase, a maltase, an α -dextrinase, or a sucrase to retard digestion and absorption of starch or sucrose (paragraph [0005] of the present specification). Moreover, the α -glucosidase inhibitor suppresses hyperglycemia after a meal temporally and reversibly by inhibiting digestion and absorption of a sugar caused by the meal (see enclosed document B (page 1101, lines 15-18) and English translation thereof). Further, as described by the enclosed document C (attached papers of the Japanese Pharmacopoeia voglibose tablet, BASEN[®] Tablets 0.2 & 0.3, from Takeda Pharmaceuticals Co., Ltd.), the voglibose tablet ensures improvement in hyperglycemia

after a meal by inhibiting a disaccharide-hydrolase (α -glucosidase) decomposing a disaccharide into a monosaccharide in the intestinal canal and by deteriorating digestion and absorption of a sugar.

Further, as apparent from the enclosed document D (Clinical Diseases of Adult People, Vol.22, No.3, 1992, page 127-134), the degree of the inhibition in the absorption of glucose by the α -glucosidase inhibitor such as voglibose is considered to be quite low and caused by retardation in the absorption of glucose. Thus, it can be said that the α -glucosidase inhibitor is used not for inhibiting the absorption of glucose but for suppressing generation of glucose by inhibiting the α -glucosidase. Furthermore, such a purpose of using the α -glucosidase is consistent with the description of the paragraph [0212] of Bussolari et al.

As described above, the mechanism of the action of the α -glucosidase inhibitor is clearly different from that of the glucose reabsorption inhibitor.

Therefore, contrary to the Examiner's assertion, it would never be predicted from Bussolari et al. to use the α -glucosidase inhibitor instead of the glucose reabsorption inhibitor.

(iii) Advantages

The present invention also shows unexpected advantages. That is, since Bussolari et al. combine the glucose reabsorption inhibitor and the PPAR modulator, reabsorption of glucose at the kidney may be effectively inhibited. However, decomposability of disaccharide into glucose would never be predicted from Bussolari et al. in relation to the specific hyperlipidemic agent such as fibrate compounds. Moreover, as apparent from the fact that Bussolari et al. exemplify Metformin as the same rank or level as α -glucosidase inhibitors such as voglibose, reducibility in the blood sugar level by the combination of the α -glucosidase inhibitor and the specific hyperlipidemic agent would never be predicted from Bussolari et al.

On the contrary, according to the present invention, since the specific hyperlipidemic agent such as fibrate compounds is combined with the α -glucosidase inhibitor, blood sugar level after a meal or feeding can be suppressed or decreased effectively. Such an effect is clearly supported by the Examples of the present specification. That is, as apparent from the Table 1, the blood sugar levels evidently increase in the cases of administering Metformin, voglibose or fenofibrate alone, or Metformin and fenofibrate in combination. On the contrary, the blood sugar level decreases in the case of administering voglibose in combination with fenofibrate.

Such results would never be predicted from Bussolari et al.

For these reasons, the invention of claims 1-3, 6-17 and 19-22 is clearly patentable over Bussolari et al.

Conclusion

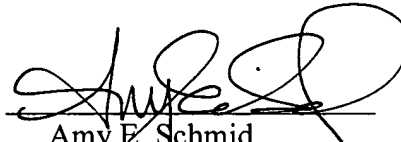
Therefore, in view of the foregoing amendments and remarks, it is submitted that each of the grounds of objection and rejection set forth by the Examiner has been overcome, and that the application is in condition for allowance. Such allowance is solicited.

If, after reviewing this Amendment, the Examiner feels there are any issues remaining which must be resolved before the application can be passed to issue, the Examiner is respectfully requested to contact the undersigned by telephone in order to resolve such issues.

Respectfully submitted,

Hashime KANAZAWA et al.

By:


Amy E. Schmid
Registration No. 55,965
Attorney for Applicants

AES/nrj
Washington, D.C. 20006-1021
Telephone (202) 721-8200
Facsimile (202) 721-8250
April 21, 2008



Improved diabetic syndrome in C57BL/KsJ-db/db mice by oral administration of the Na⁺-glucose cotransporter inhibitor T-1095

¹Kenji Arakawa, ¹Tomomi Ishihara, ¹Akira Oku, ¹Masao Nawano, ¹Kiichiro Ueta, ¹Kazuyuki Kitamura, ²Mamoru Matsumoto & ^{1*}Akira Saito

¹Discovery Research Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd., 2-2-50 Kawagishi, Toda, Saitama 335-8505, Japan and ²Analytical Chemistry Department, Product & Technology Development Laboratory, Tanabe Seiyaku Co., Ltd., 3-16-89 Kashima, Yodogawa-ku, Osaka 532-8505, Japan

1 The therapeutic effects of an orally active inhibitor of Na⁺-glucose cotransporter (SGLT), T-1095 (a derivative of phlorizin; 3-(benzo[b]furan-5-yl)-2',6'-dihydroxy-4'-methylpropiophenone 2'-O-(6-O-methoxycarbonyl-β-D-glycopyranoside)) were examined in C57BL/KsJ-db/db (db/db) mice, a genetic animal model of obese type 2 diabetes.

2 The higher renal SGLT activity in db/db mice than normoglycaemic C57BL/KsJ-db/+m (db/+m) mice may support the rationale for using an SGLT inhibitor in the treatment regimen for type 2 diabetes. Both T-1095 and its metabolite, T-1095A, which had approximately 10 times more potency, effectively inhibited renal SGLT activity of these mice *in vitro*.

3 Single oral administration of T-1095 (10, 30, 100 mg kg⁻¹, p.o.) to db/db mice caused a dose-dependent reduction in blood glucose levels and a concomitant increase in glucose excretion into urine. In contrast, T-1095 only slightly affected blood glucose levels in db/+m mice.

4 Chronic administration of T-1095 (0.1% w w⁻¹ pellet chow, for 12 weeks) decreased blood glucose and haemoglobin A_{1c} levels, and improved glucose intolerance in db/db mice. The age-related decrease in plasma insulin levels was markedly inhibited and there was a 2.5 fold increase of insulin content in the pancreas of T-1095-treated db/db mice. Food consumption was not changed, while impaired body weight gain was ameliorated by T-1095 treatment.

5 Both the development of albuminuria and the expansion of glomerular mesangial area in db/db mice were significantly suppressed by chronic T-1095 treatment, indicating the prevention of the progression of diabetic nephropathy.

6 These results demonstrate that the SGLT inhibitor T-1095 is able to improve the metabolic abnormalities and inhibit the development of diabetic complications in db/db mice. Thus, T-1095 can be used for therapy of type 2 diabetic patients.

British Journal of Pharmacology (2001) 132, 578–586

Keywords: T-1095; Na⁺-glucose cotransporter (SGLT); antidiabetic agents; diabetes; nephropathy; db/db mice

Abbreviations: AGE, advanced glycation end products; BBMV, brush border membrane vesicles, 95% CI, 95% confidence interval; db/db, C57BL/KsJ-db/db; db/+m, C57BL/KsJ-db/+m; DCCT, Diabetes Control and Complications Trial; DMSO, dimethyl sulphoxide; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; GLUT4, glucose transporter subtype 4; HbA_{1c}, haemoglobin A_{1c}; HEPES, N-[2-hydroxyethyl]piperazine-N'-[2-ethanesulphonic acid]; IC₅₀, 50% inhibitory concentration; OGTT, oral glucose tolerance test; PAS, periodic acid Schiff; RIA, radioimmunoassay; SGLT, Na⁺-glucose cotransporter; Tris, 2-amino-2-hydroxymethyl-propan-1,3-diol; UKPDS, U.K. Prospective Diabetes Study

Introduction

The major biochemical alteration in type 2 diabetes is hyperglycaemia, which is caused by variable combination of impaired insulin secretion from pancreatic β-cells and insulin resistance in peripheral tissues (DeFronzo *et al.*, 1992; Taylor *et al.*, 1994). Hyperglycaemia is not only a symptom of diabetes mellitus, but also a pathogenic factor leading to chronic diabetic micro- and macro-vascular complications (Klein, 1995; Porte & Schwartz, 1996). In addition, several lines of evidences suggest that hyperglycaemia *per se* directly impairs both insulin secretion and sensitivity, a phenomenon known as 'glucose toxicity', which contributes to the

progressive worsening of hyperglycaemia (Rossetti, 1995). Thus, in type 2 diabetic patients, the goal of the therapy is to strictly control blood glucose levels within the normal range. However, due to limited efficacy and adverse side effects of currently available therapies, it is difficult to maintain good glycaemic control in most diabetic patients. Therefore, there is a strong incentive to develop new hypoglycaemic drugs.

Previous studies have suggested that the hypoglycaemic effect of phlorizin, a classic inhibitor of Na⁺-glucose cotransporter (SGLT), is attributed glucosuria (Blondel *et al.*, 1990; Khan & Efendic, 1995; Krook *et al.*, 1997; Rossetti *et al.*, 1990). Although phlorizin is ineffective when administered orally, presumably due to hydrolysis by β-glucosidase in the intestine (Malathi & Crane, 1969;

*Author for correspondence; E-mail: a-saito@tanabe.co.jp

Tsujihara *et al.*, 1996), we have recently identified some orally active SGLT inhibitory compounds among analogues of phlorizin (Hongu *et al.*, 1998a,b; Tsujihara *et al.*, 1996). Based on its high potency and low toxicity, T-1095 (3-(benzo[b]furan-5-yl)-2',6'-dihydroxy-4'-methylpropionophenone 2'-O-(6-O-methoxycarbonyl- β -D-glycopyranoside) was selected from 4'-dehydrophlorizin derivatives for further pharmacological evaluations (Tsujihara *et al.*, 1999). As reported previously, T-1095 showed hypoglycaemic effects in some diabetic animal models, streptozotocin-induced diabetic rats, yellow KK mice, and Zucker diabetic fatty rats (Nawano *et al.*, 1999; 2000; Oku *et al.*, 1999; 2000). It is therefore expected T-1095 is a potentially novel antidiabetic agent.

The purpose of the current study was to further characterize the actions of T-1095. We used the diabetic mouse strain C57BL/KsJ-db/db (db/db), which exhibits many of the metabolic disturbances of human type 2 diabetes including hyperglycaemia, obesity, and early hyperinsulinaemia (Berglund *et al.*, 1978; Herberg & Coleman, 1977; Hummel *et al.*, 1966). In addition, renal pathological changes after 10–20 weeks of sustained hyperglycaemia also resemble those observed in human diabetic patients (Cohen *et al.*, 1994; Lee & Bressler, 1981). In the present study, the pharmacological effects of T-1095 with specific regard to blood glucose control and prevention of the progressive diabetic syndrome including diabetic nephropathy were evaluated in db/db mice.

Methods

Chemicals

T-1095 (3-(benzo[b]furan-5-yl)-2',6'-dihydroxy-4'-methylpropionophenone 2'-O-(6-O-methoxycarbonyl- β -D-glycopyranoside) and its metabolite T-1095A (3-(benzo[b]furan-5-yl)-2',6'-dihydroxy-4'-methylpropionophenone 2'-O- β -D-glycopyranoside) were synthesized at the Discovery Research Laboratory of Tanabe Seiyaku Co., Ltd. Phlorizin was purchased from Sigma (St. Louis, MO, U.S.A.). D-[6-³H(N)]glucose was obtained from NEN (Boston, MA, U.S.A.). All other chemicals used were of guaranteed reagent grade.

Animals

Male db/db mice and their nondiabetic controls (db/+m) were obtained from CLEA Japan (Tokyo, Japan). They were housed individually in plastic cages with bedding and allowed free access to normal laboratory chow, CE-2 (CLEA Japan), and tap water. The animal rooms were controlled for temperature (23 \pm 2°C), humidity (55 \pm 5%), and light (12 h light-dark cycle). All mice were used for experiments at 8 weeks of age after 1 week of acclimation period. The animals were divided into experimental groups matched for both body weights and blood glucose levels. The ethics committee of Tanabe Seiyaku Co., Ltd approved all experimental procedures.

In vitro inhibition of renal SGLT activity by T-1095 and T-1095A

Brush border membrane vesicles (BBMV) were prepared from the renal cortex of db/+m and db/db mice by the Ca²⁺

precipitation method (Malathi *et al.*, 1979). SGLT activity was assayed as Na⁺-dependent [³H]-glucose uptake in BBMV. In brief, BBMV suspension (0.2 mg protein) in 150 μ l of assay buffer (10 mM N-[2-hydroxyethyl]piperazine-N'-[2-ethanesulphonic acid] (HEPES)-2-amino-2-hydroxy-methyl-propan-1,3-diol (Tris), pH 7.4, 100 mM mannitol) was preincubated at 37°C for 2 min with or without compound. Compounds were dissolved in dimethyl sulphoxide (DMSO). The final concentration of DMSO was always kept at 0.5% and control BBMV also received equivalent amount of DMSO. The transport reaction was started by addition of 50 μ l substrate (D-[6-³H(N)] glucose 37 kBq; final concentration, 0.1 mM, and NaSCN or KSCN; final concentration, 100 mM) and stopped after 5 s by addition of 1.5 ml of ice-cold stop solution containing 150 mM NaCl and 0.3 mM phlorizin in 10 mM HEPES-Tris buffer (pH 7.4). BBMV were immediately filtered through a nitrocellulose membrane filter (pore size 0.45 μ m; Advantec, Tokyo, Japan) under light suction and then washed with 4.5 ml of ice-cold stop solution. The radioactivity on the membrane filter was measured with a liquid scintillation counter (Tricarb 4640; Packard, Meriden, CT, U.S.A.).

The single administration study

For the single oral administration experiment, T-1095 suspended in 0.1% (w v⁻¹) hydrogenated castor oil polyethylene glycol ether (Nikkol[®] HCO-60; Nikko Chemicals, Tokyo, Japan) solution was orally administered to db/db and db/+m mice *via* a stomach tube at a volume of 10 ml kg⁻¹. Blood samples in the fed state were taken from the tail vein before and at 0.5, 1, 2, 3, 5, 8, and 24 h after the administration of the drug or vehicle for determination of glucose. Urine samples were collected using metabolic cages to measure urinary glucose excretion.

The chronic administration study

The db/db mice were kept on a CE-2 pellet chow containing 0.03 or 0.1% (w w⁻¹) of T-1095 for 12 weeks. The exact doses were estimated from the daily diet intakes and body weights. Blood samples in the fed state and 24 h urine samples were collected as described above. The levels of blood glucose, haemoglobin A_{1C} (HbA_{1C}), plasma insulin, urinary glucose and urinary albumin were determined periodically. An oral glucose tolerance test (OGTT) was performed at the 12th week of the study. At the end of the experimental period, the mice were killed by whole blood collection from the abdominal aorta under ether anaesthesia. Then, the kidneys and pancreas were removed quickly from each mouse and weighed. The pancreases were immediately frozen in liquid N₂, and were stored at -80°C for later measurement of insulin and glucagon contents. The kidneys were examined histopathologically as described below.

OGTT

Mice were fasted overnight and then 1 g kg⁻¹ glucose solution was orally administered at a volume of 10 ml kg⁻¹. Blood samples were obtained before and 30, 60, and 120 min after the glucose challenge for determination of blood glucose levels.

Pancreatic insulin and glucagon contents

Pancreatic insulin and glucagon contents were determined after extraction by acid-ethanol solution. Whole pancreases were crushed and homogenized in acid-ethanol solution (75% EtOH, 23.5% d-water, 1.5% c-HCl) with a Polytron homogenizer (Kinematica, Luzern, Switzerland). The homogenized tissue was extracted overnight at 4°C, centrifuged at 1500 × g for 30 min, and the resultant supernatant was diluted and then subjected to radioimmunoassay (RIA) for insulin and glucagon determinations.

Analytical methods

Blood glucose was determined using commercially available kits based on the glucose oxidase method (New Blood Sugar Test®; Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany). Urinary glucose was measured by a Glucose Analyser (APEC, Inc., Danvers, MA, U.S.A.). HbA_{1c} was determined by an affinity column method (Glyc-Affin-GHb®; Seikagaku Corp., Tokyo, Japan). Plasma and pancreatic insulin contents were assayed using an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (Seikagaku Corp.) and a RIA kit (Amersham, Buckinghamshire, U.K.), respectively, with rat insulin as standards. Glucagon was measured with a RIA kit (Daiichi Radioisotope, Tokyo, Japan). Urinary albumin contents were determined using an ELISA kit (Exocell, Inc., Philadelphia, PA, U.S.A.) with mouse albumin as a standard.

Glomerular histology and morphometry

For histopathological examination, the kidneys were fixed in methanol-Carnoy's solution, and the specimens were embedded in paraffin. The sections (4 µm) were stained with the hematoxylin and eosin and periodic acid Schiff (PAS) techniques, and were examined under a light microscope. For quantification, sections were coded and read by an observer unaware of the experimental protocol applied. One hundred glomeruli (50 glomeruli each from left and right kidneys) were randomly selected from each animal. The extent of increase in mesangial area was determined by the presence of PAS-positive material in the mesangial region and scored as follows: 0, no remarkable change; 1, diffuse and slight increase; 2, segmental increase with nodular lesion; 3, global increase like a glomerulosclerosis. The total score of 100 glomeruli was used for the statistical analysis.

Statistics

Significant differences between groups were evaluated using unpaired Student's *t*-test or one-way analysis variance with multiple comparisons by Dunnett's method where appropriate. Histopathological score of glomerular lesions were analysed by the Kruskal-Wallis test followed by the Mann-Whitney *U*-test with Bonferroni's correction. In all cases, probabilities less than 5% ($P < 0.05$) were considered to be statistically significant. Fifty per cent inhibitory concentration (IC₅₀) and 95% confidence interval (95% CI) were calculated by nonlinear least squares analysis using a four-parameter logistic model.

Results

Renal SGLT activity and in vitro inhibition by T-1095 and T-1095A

Renal SGLT activities of db/+m mice and db/db mice were determined at 8 weeks of age. Significantly higher activities were observed in db/db mice than in db/+m mice (191 ± 4 vs 148 ± 3 pmol s⁻¹ mg protein⁻¹, mean ± s.e. mean of three separate membrane preparations each performed triplicate, $P < 0.01$).

Figure 1 shows the effects of T-1095, T-1095A and phlorizin on the renal SGLT activities *in vitro*. All three compounds inhibited the activity in both db/+m (Figure 1a) and db/db mice (Figure 1b) in a concentration-dependent manner. The IC₅₀ values (95% CI) of T-1095, T-1095A and phlorizin were 12.5 (10.7–14.6), 1.5 (1.1–2.1), and 2.9 (2.0–4.0) µM in db/+m mice, and 12.4 (10.5–14.7), 1.1 (0.9–1.5) and 2.5 (2.0–3.2) µM in db/db mice, respectively. There was no difference in the inhibitory potencies of these compounds between db/+m and db/db mice. In terms of IC₅₀ values, T-

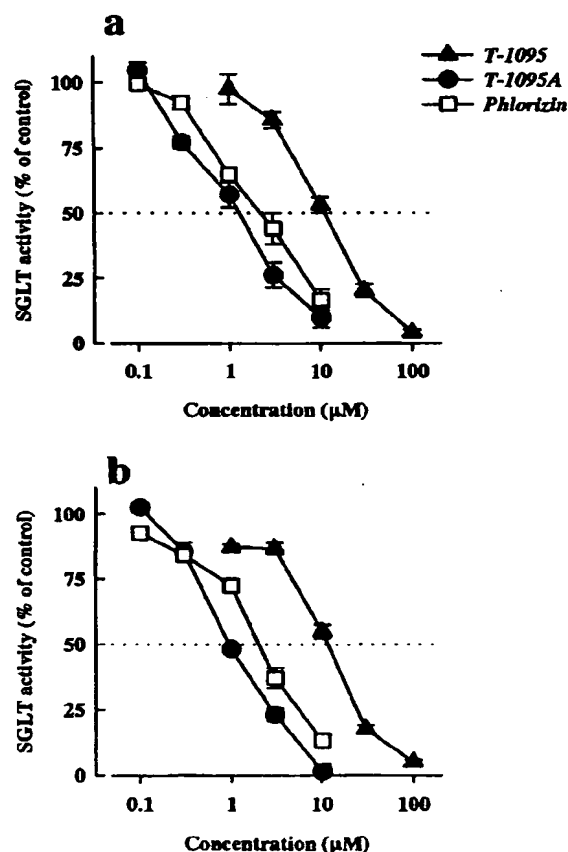


Figure 1 Effect of T-1095, T-1095A and phlorizin on renal SGLT activity of db/+m (a) and db/db mice (b) *in vitro*. SGLT activity was assayed as Na⁺-dependent [³H]-glucose uptake (0.1 mM) in BBMV prepared from the renal cortex. Symbols represent mean values and vertical lines show s.e. mean of three observations.

1095A was approximately two and 10 times more potent than phlorizin and T-1095, respectively.

Effect of single oral administration of T-1095 on blood glucose and urinary glucose excretion

When 10, 30, and 100 mg kg⁻¹ of T-1095 were orally administered to db/db mice, dose-dependent blood glucose lowering effects were observed (Figure 2b). A significant fall of blood glucose levels could be detected at a dose of 30 mg kg⁻¹. The maximal dose of 100 mg kg⁻¹ caused sustained decrease in blood glucose levels for 5 h, but a significant reduction was no longer noticed after 8 h. In contrast to db/db mice, the effect of T-1095 on blood glucose levels in normoglycaemic db/+m mice was only marginal even at 100 mg kg⁻¹ (Figure 2a).

Table 1 shows the urinary glucose excretion of the experimental groups. The glucosuria of db/db mice were dose-dependently accelerated by T-1095 administration in 5 h (0–5 h), although no changes were detected thereafter (5–

24 h). In db/+m mice, there was a dose-dependent increase in cumulative urinary glucose (0–24 h) after oral administration of T-1095. The increase of urinary glucose excretion was more pronounced in 5 h after T-1095 administration in db/db mice than that in 24 h in db/+m mice.

Effect of chronic administration of T-1095 on the glycaemic control and the progressive diabetic phenotype

The db/db mice were kept on a diet containing 0.03 (low dose) or 0.1% (high dose) (w w⁻¹) of T-1095 for 12 weeks. The average daily dose of the drugs calculated from periodically determined food intake and body weight were as follows; T-1095 0.03%, 50 mg kg⁻¹ day⁻¹; T-1095 0.1%, 152 mg kg⁻¹ day⁻¹. Throughout the experimental period, T-1095 dose-dependently lowered blood glucose levels (Figure 3a) and HbA_{1c} values (Figure 3b) in db/db mice. Figure 4 shows the results of the OGTT performed at the 12th week of the treatments. T-1095 at the high dose improved the severe glucose intolerance of db/db mice; blood glucose levels in fasting and after the glucose load were both significantly lower in the mice than the untreated db/db mice.

The age-related changes of plasma insulin levels are shown in Figure 3c. The elevated plasma insulin levels in db/db mice at the beginning of the study were gradually decreased to values near those in db/+m mice with ageing. However, T-1095 at a high dose almost completely inhibited the age-related decrease of plasma insulin levels in these mice. The pancreatic insulin and glucagon contents and pancreatic tissue weights were also measured at the end of the study (Table 2). The pancreatic insulin content was markedly lower, whereas the glucagon content was higher in db/db mice than db/+m mice. The T-1095 treatment at a high dose resulted in significant increase (approximately 2.5 fold) of pancreatic insulin contents, but not the pancreatic glucagon contents and pancreatic tissue weights.

The effect of the treatments on body weight of db/db mice is shown in Figure 3d. Body weights of T-1095-treated db/db mice were comparable with control db/db mice up to 10 weeks of age. The control db/db mice did not gain more weight from this age, while T-1095-treated db/db mice further gained weight dose-dependently. Interestingly, as shown in Table 2, T-1095 treatment did not affect the food consumption throughout the study. In addition, T-1095 treatment also ameliorated polydipsia (Table 2), polyuria (Figure 5a), and glucosuria (Figure 5b) of db/db mice.

As shown in Figure 5c, urinary microalbumin excretion, the established parameter reflecting diabetic glomerular dysfunction (Mogensen, 1990), was significantly increased in db/db mice at the start of the experiment. Then, the urinary albumin was gradually increased, and reached approximately 1.2 mg 100 g⁻¹ day⁻¹, which was as 30 times the level as that of db/+m mice. T-1095 at high dose almost completely suppressed the increase of urinary albumin, indicating the beneficial influence on renal dysfunction in these mice. The protective effect of T-1095 on nephropathy was also examined by the histopathological analyses. Renal glomeruli in db/db controls showed various extent of expansion of the PAS-positive mesangial area (Figure 6b) in contrast to db/+m mice (Figure 6a). Glomeruli from T-1095-treated db/db mice were with appreciably less mesangial expansion (Figure 6c). Scoring the extent of increase in mesangial area

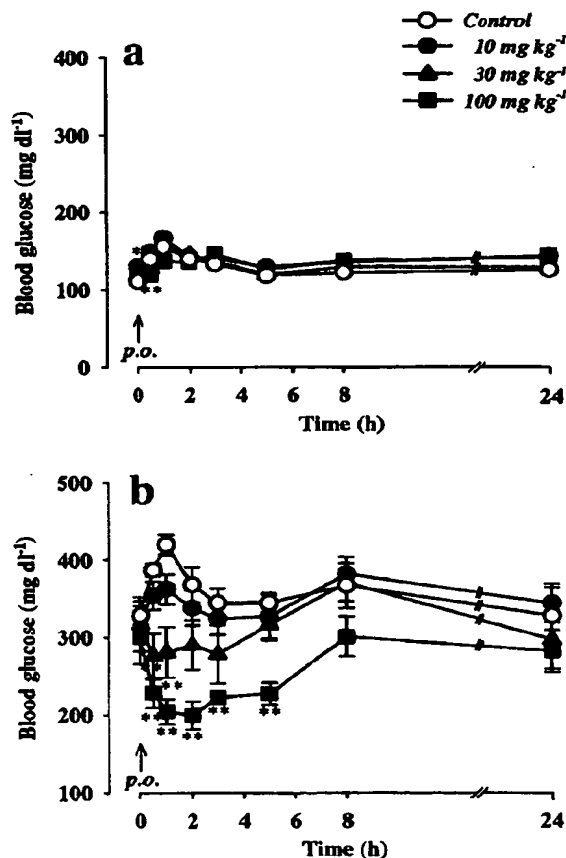


Figure 2 Effect of single oral administration of T-1095 on blood glucose levels in db/+m (a) and db/db mice (b). T-1095 (10, 30 and 100 mg kg⁻¹) was orally administered and changes in blood glucose were monitored for 24 h. Symbols represent mean values and vertical lines show s.e.mean ($n=5$). * $P<0.05$, ** $P<0.01$ versus respective control.

Table 1 Effects of single oral administration of T-1095 on urinary glucose excretion in db/+m and db/db mice

Groups	Dose (mg kg ⁻¹)	Cumulative urinary glucose excretion (mg 100 g ⁻¹)		
		db/+m 0–24 h	db/db 0–5 h	db/db 5–24 h
Control		5 ± 1	154 ± 44	1691 ± 142
T-1095	10	3 ± 0	234 ± 52	2085 ± 216
	30	57 ± 24	334 ± 91	1435 ± 404
	100	169 ± 29**	447 ± 68*	1563 ± 347

T-1095 (10, 30 and 100 mg kg⁻¹) was orally administered and 24 h-urine samples (from 0 to 24 h for db/+m mice; from 0 to 5 h and from 5 to 24 h for db/db mice) were collected using metabolic cages. Values are mean ± s.e.mean (n = 5). *P < 0.05 and **P < 0.01 versus respective control.

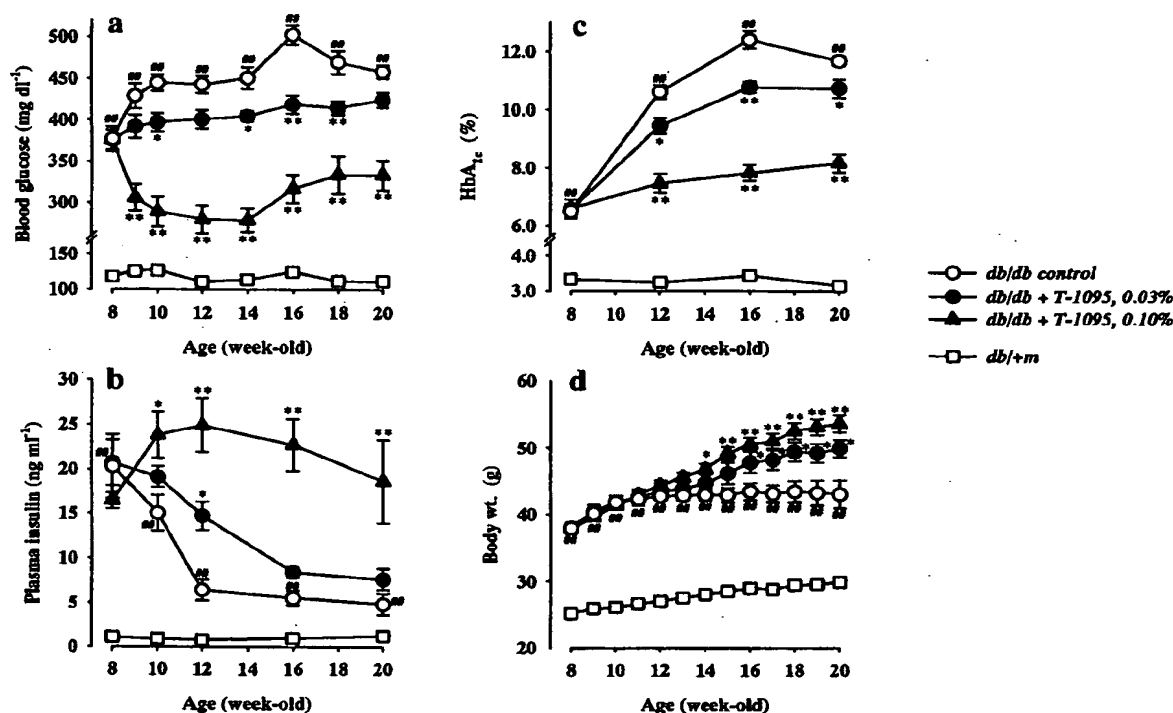


Figure 3 Effects of chronic T-1095 treatment on blood glucose (a), HbA_{1c} (b), plasma insulin (c) levels and body wt. (d) in db/db mice. T-1095 (0.03 and 0.10% in diet) was given for 12 weeks. Blood glucose, HbA_{1c}, plasma insulin levels and body wt. were monitored periodically. Symbols represent mean values and vertical lines show s.e.mean (n = 8). ***P < 0.01 versus db/+m mice. *P < 0.05, **P < 0.01 versus control.

quantitates these differences; 65 ± 4 , 56 ± 4 , 46 ± 4 , and 4 ± 1 in untreated db/db, low dose T-1095, high dose T-1095, and db/+m groups, respectively. T-1095 at a high dose significantly ($P < 0.01$) decreased the mesangial expansion. The low dose T-1095 group also exhibited tendency to decrease mesangial area, whereas the difference did not reach significance.

Discussion

Plasma glucose is filtered in the glomerulus and then transepithelially reabsorbed by SGLT in the proximal tubules

(Deetjen *et al.*, 1995; Silverman & Turner, 1992). The reabsorption of glucose is saturable, and when the amount of the filtered glucose exceeds the capacity due to hyperglycaemia, non-reabsorbed glucose is excreted in urine, i.e. glucosuria (Deetjen *et al.*, 1995). The significant higher renal SGLT activity in db/db mice suggests enhanced glucose reabsorption in diabetic mice than nondiabetic mice. In diabetic patients, glucosuria can be considered as a protective overflow, since more severe hyperglycaemia is prevented (Deetjen *et al.*, 1995). Thus, although it may not be a primary factor for induction of diabetes, elevated renal glucose reabsorption would further aggravate hyperglycaemia. This may support the rationale for using an SGLT inhibitor as a

hypoglycaemic agent in the treatment regimen for diabetes mellitus.

Bolus p.o. administration of T-1095 caused dose-dependent falls in the blood glucose levels in db/db mice. Since there was an additional excretion of glucose into urine, blood glucose lowering by T-1095 is likely a consequence of glucosuria induction via the inhibition of renal glucose

reabsorption. In contrast to db/db mice, there was only a marginal hypoglycaemic effect and urinary glucose increase by T-1095 administration in normoglycaemic db/+m mice. As mentioned above, since SGLTs are abundantly expressed in proximal tubules, only a part of the SGLT function is sufficient for complete reabsorption of filtered glucose at normal glucose levels; in turn, the reabsorption mechanism is saturated under hyperglycaemic conditions (Deetjen *et al.*, 1995). Some extent of inhibition of SGLT would excrete larger amount of glucose into urine in hyperglycaemic conditions than in normoglycaemic state and, therefore, T-1095 lowers the blood glucose levels more efficiently in hyperglycaemic than normoglycaemic states. This can be considered as an advantage, because T-1095 hardly induces hypoglycaemia, which is a major concern for current therapies with insulin or sulphonylureas.

On the other hand, SGLT is also abundantly expressed in small intestine and mediates intestinal glucose absorption (Silverman, 1991). Therefore, it cannot be ruled out the possibility that suppression of the intestinal glucose absorption also contribute, at least in part, to the anti-hyperglycaemic action of T-1095. A preliminary study has shown that T-1095 is converted to T-1095A by S9 fraction of the liver and that T-1095A but not T-1095 was detected in plasma following oral administration of T-1095 (unpublished observations). Both T-1095 and T-1095A inhibited renal SGLT, but in terms of IC_{50} values, the former agent is approximately 10 times less potent than the later. Thus, it is likely that T-1095A primarily accounts for the hypoglycaemic effects of T-1095 in db/db mice via renal SGLT inhibition.

This study has also shown that chronic treatment of db/db mice with T-1095 improves glycaemic control and ameliorates severe glucose intolerance. Interestingly, T-1095 did not increase but rather decreased the urinary glucose excretion in the experiment. In addition, both the urine volume and water intake in db/db mice were reduced, probably due to the decrease of urinary glucose excretion. These results are apparently paradoxical, but reasonable, because the glucose content in glomerular filtrate, which is a linear function of the blood glucose levels, would decrease in T-1095-treated mice along with the correction of hyperglycaemia. However, when the blood glucose levels of db/db mice were controlled

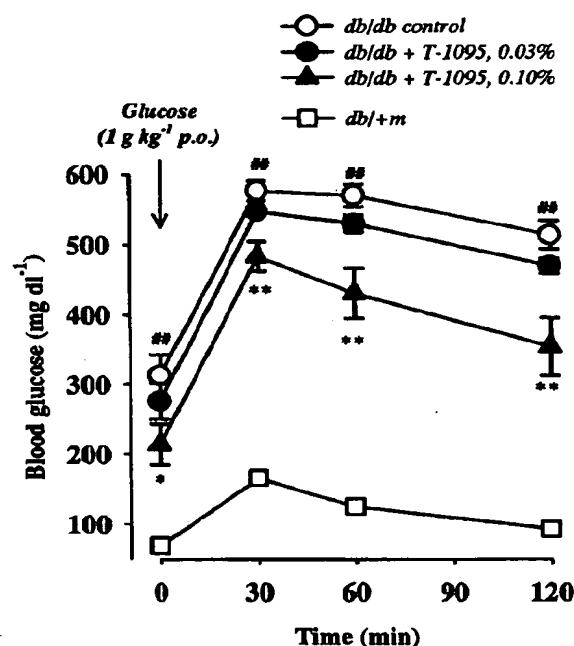


Figure 4 Effects of chronic T-1095 treatment on glucose intolerance in db/db mice. T-1095 (0.03 and 0.10% in diet) was given for 12 weeks. Mice were subjected to an OGTT after an overnight fast. Following baseline blood glucose determination, glucose (1 g kg^{-1} body wt.) was orally administered and blood glucose levels were evaluated through 120 min. Symbols represent mean values and vertical lines show s.e.mean ($n=8$). $\#P<0.05$, $\#P<0.01$ versus control. $*P<0.05$, $**P<0.01$ versus db/+m mice.

Table 2 Effects of chronic administration of T-1095 on food consumption, water consumption, kidneys wt., pancreas wt., pancreatic insulin and glucagon contents in db/db mice

	Age (weeks)	db/db Control	db/db + T-1095 0.03%	db/db + T-1095 0.10%	db/+m
Food consumption (g day^{-1})	9	$7.2 \pm 0.1^{\#}$	7.8 ± 0.3	7.3 ± 0.4	3.4 ± 0.1
	12	$7.5 \pm 0.2^{\#}$	7.3 ± 0.3	7.4 ± 0.3	3.8 ± 0.1
	16	$7.0 \pm 0.2^{\#}$	6.6 ± 0.3	6.3 ± 0.4	3.4 ± 0.1
	20	$6.3 \pm 0.3^{\#}$	7.2 ± 0.2	6.9 ± 0.3	3.7 ± 0.1
Water consumption (ml day^{-1})	9	$21.6 \pm 1.6^{\#}$	19.8 ± 1.3	16.8 ± 1.9	5.1 ± 0.1
	12	$24.6 \pm 1.1^{\#}$	20.6 ± 1.3	$17.6 \pm 1.7^{**}$	4.8 ± 0.1
	16	$22.2 \pm 1.5^{\#}$	$16.9 \pm 1.4^{*}$	$12.9 \pm 1.3^{**}$	4.1 ± 0.2
	20	$18.8 \pm 1.8^{\#}$	20.6 ± 1.8	16.6 ± 1.9	4.2 ± 0.2
Kidneys wt. (mg)	20	$552 \pm 25^{\#}$	550 ± 25	555 ± 13	470 ± 12
Pancreas wt. (mg)	20	314 ± 10	344 ± 22	364 ± 13	318 ± 13
Pancreatic insulin (ng mg^{-1})	20	$32.9 \pm 4.0^{\#}$	49.3 ± 6.8	$80.7 \pm 11.3^{**}$	245.0 ± 16.4
Pancreatic glucagon (ng mg^{-1})	20	$23.0 \pm 1.7^{\#}$	20.4 ± 2.5	18.1 ± 2.7	6.3 ± 0.8

Drugs were given as dietary admixtures for 12 weeks. Food and water intakes were monitored periodically. Kidneys and pancreas wt., pancreatic insulin and glucagon contents were determined at the end of the study. Values are means \pm s.e.mean ($n=8$). $\#P<0.01$ versus db/+m mice. $*P<0.05$ and $**P<0.01$ versus db/db control.

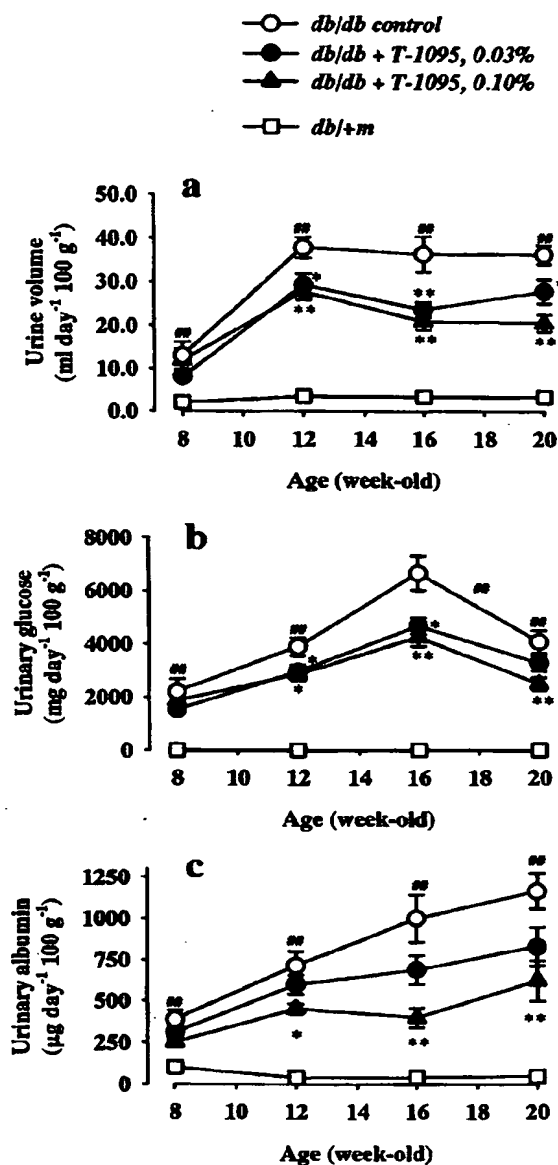


Figure 5 Effect of chronic T-1095 treatment on urine volume (a), urinary glucose (b) and albumin (c) excretion in db/db mice. T-1095 (0.03 and 0.10% in diet) was given for 12 weeks. Urine was collected using metabolic cages and urine volume, urinary glucose and albumin excretion were monitored periodically. Symbols represent mean values and vertical lines show s.e. mean ($n=8$). ### $P<0.01$ versus db/+m mice. * $P<0.05$, ** $P<0.01$ versus control.

similarly with acarbose, an α -glucosidase inhibitor, there was much less urinary glucose excretion compared with animals treated with T-1095 (data not shown). Therefore, it is likely that T-1095 inhibits reabsorption of glucose and still excretes more glucose even when hyperglycaemia is continuously suppressed, and maintains its blood glucose-lowering action.

As there was no decrease in the food consumption of T-1095-treated-db/db mice, the continuous hypoglycaemic effect is not due to decrease in caloric intake. T-1095-treated db/db mice gained weight throughout the study, although the control db/db mice did not gain more weight from 10 weeks of age. Similar improved weight gain in db/db mice has also been reported in troglitazone-treated (Fujiwara *et al.*, 1991) and glucose transporter subtype 4 form (GLUT4) over-expressed db/db mice (Gibbs *et al.*, 1995). Since db/db mice do not add weight along with progression of diabetic phenotype, we hypothesize that improvement of hyperglycaemia by T-1095 prevents the development of diabetic state and thus enhances the animals' ability to thrive.

Although glucose is the major physiological stimulator of insulin secretion and biosynthesis, extensive exposure of pancreatic β cells to high levels of glucose *in vitro* causes β -cell dysfunction that is associated with impaired insulin secretion and biosynthesis (Robertson *et al.*, 1992). There is substantial evidence linking hyperglycaemia with the non-enzymatic reaction of sugars with proteins and the accelerated formation of advanced glycation end products (AGE) that may play an important role in the pathogenesis of glucose toxicity (Tajiri *et al.*, 1997). Prolonged poor glycaemic control in diabetic patients often leads to a decline in insulin secretion from pancreatic β cells and to worsening of the diabetic state (Unger & Grundy, 1985), as is in the case of db/db mice. In the present study, we demonstrated that the long-term treatment with T-1095 prevented the age-related decrease in plasma insulin levels and attenuated the loss of pancreatic insulin contents in db/db mice. As T-1095 showed little effect on blood glucose levels in db/+m mice, it is unlikely that it has direct insulinotropic actions on pancreatic β cells. This is also supported by the hypoglycaemic effects of T-1095 in insulin-deficient diabetic rats (Oku *et al.*, 1999). Recent study has shown that similar beneficial effects of aminoguanidine, an inhibitor of AGE formation, on serum and pancreatic insulin levels of db/db mice (Piercy *et al.*, 1998). It is likely that these drugs prevented exhaustion of pancreatic β cells of db/db mice possibly through the alleviation of glucose toxicity.

Diabetic nephropathy is the single largest cause of end-stage renal disease and develops in many patients with both type 1 and type 2 diabetes. Effective medical therapy to halt the inexorable progression of renal disease due to diabetes, once the process is initiated, has been elusive. For this reason, we also studied the effect of T-1095 on diabetic nephropathy in db/db mice. Albumin excretion, the established parameter reflecting the diabetic glomerular dysfunction (Mogensen, 1990), was age-dependently increased in db/db mice. Furthermore, the morphological study has demonstrated an expansion of glomerular mesangial area like human diabetic nephropathy in aged db/db mice. Marked improvement of these parameters suggests that the treatment with T-1095 prevents the development of renal dysfunction in the diabetic mice. The results of the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) (DCCT, 1995) and U.K. Prospective Diabetes Study (UKPDS) (UKPDS, 1998) have established that those intensive regimens for blood glucose control lower the risk for diabetic nephropathy. Therefore, it is likely that T-1095 prevents the development of diabetic nephropathy by reducing blood glucose levels at an early stage of diabetes. Suppression by acarbose of the nephropathy of db/db mice

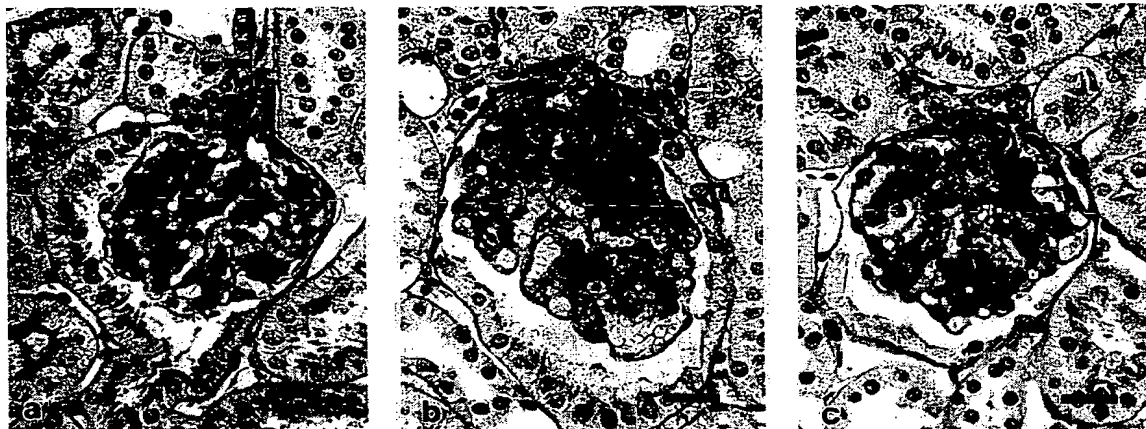


Figure 6 Representative microphotographs of glomeruli from db/+m mice (a), control db/db mice (b), and the high dose of T-1095-treated db/db mice (c). Expansion of the PAS-positive glomerular mesangial area is apparent in the control db/db mice compared with the db/+m mice. There is minimal mesangial widening in the T-1095-treated mice. Scale bar = 10 μ m.

(Lee, 1982), also supports this conclusion. However, a recent report suggested the involvement of the augmented glucose influx into mesangial cells in development of diabetic nephropathy (Heilig *et al.*, 1997). Although the physiological role of SGLT in mesangial cells is not known, the direct renal protective action *via* an effect on the mesangial SGLT cannot be excluded, and remains to be investigated.

In summary, we demonstrated the acute and chronic antihyperglycaemic effects of T-1095 in db/db mice. In addition, long-term treatment with T-1095 restored the deterioration of diabetic states, possibly through protection

from glucose toxicity, and suppressed the development of diabetic nephropathy. Thus it is expected that an orally active SGLT inhibitor, T-1095, can be used for the therapy of human type 2 diabetic patients.

We would like to thank Dr Kenji Tsujihara, Dr Katsuo Ikezawa and Dr Takeshi Matsumoto for their helpful discussions and Yasuo Kuronuma for technical assistance.

References

- BERGLUND, O., FRANKEL, B.J. & HELLMAN, B. (1978). Development of the insulin secretory defect in genetically diabetic (db/db) mouse. *Acta Endocrinol.*, **87**, 543–551.
- BLONDEL, O., BAILBE, D. & PORTHA, B. (1990). Insulin resistance in rats with non-insulin-dependent diabetes induced by neonatal (5 days) streptozotocin: evidence for reversal following phlorizin treatment. *Metabolism*, **39**, 787–793.
- COHEN, M.P., HUD, E. & WU, V.Y. (1994). Amelioration of diabetic nephropathy by treatment with monoclonal antibodies against glycated albumin. *Kidney Int.*, **45**, 1673–1679.
- THE DIABETES CONTROL AND COMPLICATIONS TRIAL (DCCT) RESEARCH GROUP. (1995). Effect of intensive therapy on the development and progression of diabetic nephropathy in the Diabetes Control and Complications Trial. *Kidney Int.*, **47**, 1703–1720.
- DEETJEN, P., BAEYER, H.V. & DREXEL, H. (1995). Renal handling of D-glucose and other sugars. In *Textbook of Nephrology*. ed. Massry, S.G. & Glasscock, R.J. pp. 90–94. Baltimore: Williams & Wilkins.
- DEFRONZO, R.A., BONADONNA, R.C. & FERRANNINI, E. (1992). Pathogenesis of NIDDM. A balanced overview. *Diabetes Care*, **15**, 318–368.
- FUJIWARA, T., WADA, M., FUKUDA, K., FUKAMI, M., YOSHIOKA, S., YOSHIOKA, T. & HORIKOSHI, H. (1991). Characterization of CS-045, a new oral antidiabetic agent, II. Effects on glycemic control and pancreatic islet structure at a late stage of the diabetic syndrome in C57BL/KsJ-db/db mice. *Metabolism*, **40**, 1213–1218.
- GIBBS, E.M., STOCK, J.L., MCCOY, S.C., STUKENBROK, H.A., PESSIN, J.E., STEVENSON, R.W., MILICI, A.J. & MCNEISH, J.D. (1995). Glycemic improvement in diabetic db/db mice by overexpression of the human insulin-regulatable glucose transporter (GLUT4). *J. Clin. Invest.*, **95**, 1512–1518.
- HEILIG, C.W., BROSIUS III, F.C. & HENRY, D.N. (1997). Glucose transporters of the glomerulus and the implications for diabetic nephropathy. *Kidney Int. Suppl.*, **60**(Suppl.), S91–S99.
- HERBERG, L. & COLEMAN, D.L. (1977). Laboratory animals exhibiting obesity and diabetes syndromes. *Metabolism*, **26**, 59–99.
- HONGU, M., FUNAMI, N., TAKAHASHI, Y., SAITO, K., ARAKAWA, K., MATSUMOTO, M., YAMAKITA, H. & TSUJIHARA, K. (1998a). Na⁺-glucose cotransporter inhibitors as antidiabetic agents. III. Synthesis and pharmacological properties of 4'-dehydroxyphlorizin derivatives modified at the OH groups of the glucose moiety. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **46**, 1545–1555.
- HONGU, M., TANAKA, T., FUNAMI, N., SAITO, K., ARAKAWA, K., MATSUMOTO, M. & TSUJIHARA, K. (1998b). Na⁺-glucose cotransporter inhibitors as antidiabetic agents. II. Synthesis and structure-activity relationships of 4'-dehydroxyphlorizin derivatives. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **46**, 22–33.
- HUMMEL, K.P., DICKIE, M.M. & COLEMAN, D.L. (1966). Diabetes, a new mutation in the mouse. *Science*, **153**, 1127–1128.
- KHAN, A. & EFENDIC, S. (1995). Evidence that increased glucose cycling in islets of diabetic ob/ob mice is a primary feature of the disease. *Am. J. Physiol.*, **269**, E623–E626.

- KLEIN, R. (1995). Hyperglycemia and microvascular and macrovascular disease in diabetes. *Diabetes Care*, **18**, 258–268.
- KROOK, A., KAWANO, Y., SONG, X.M., EFENDIC, S., ROTH, R.A., WALLBERG-HENRIKSSON, H. & ZIERATH, J.R. (1997). Improved glucose tolerance restores insulin-stimulated Akt kinase activity and glucose transport in skeletal muscle from diabetic Goto-Kakizaki rats. *Diabetes*, **46**, 2110–2114.
- LEE, S.M. (1982). The effect of chronic alpha-glycosidase inhibition on diabetic nephropathy in the db/db mouse. *Diabetes*, **31**, 249–254.
- LEE, S.M. & BRESSLER, R. (1981). Prevention of diabetic nephropathy by diet control in the db/db mouse. *Diabetes*, **30**, 106–111.
- MALATHI, P. & CRANE, R.K. (1969). Phlorizin hydrolase: a β -glucosidase of hamster intestinal brush border membrane. *Biochim. Biophys. Acta*, **173**, 245–256.
- MALATHI, P., PREISER, H., FAIRCLOUGH, P., MALLETT, P. & CRANE, R.K. (1979). A rapid method for the isolation of kidney brush border membranes. *Biochim. Biophys. Acta*, **554**, 259–263.
- MOGENSEN, C.E. (1990). Prediction of clinical diabetic nephropathy in IDDM patients. Alternatives to microalbuminuria? *Diabetes*, **39**, 761–767.
- NAWANO, M., OKU, A., UETA, K., UMEBAYASHI, I., ISHIRAHARA, T., ARAKAWA, K., SAITO, A., ANAI, M., KIKUCHI, M. & ASANO, T. (2000). Hyperglycemia contributes insulin resistance in hepatic and adipose tissue but not skeletal muscle of ZDF rats. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, **278**, E535–E543.
- NAWANO, M., UETA, K., OKU, A., ARAKAWA, K., SAITO, A., FUNAKI, M., ANAI, M., KIKUCHI, M., OKA, Y. & ASANO, T. (1999). Hyperglycemia impairs the insulin signaling step between PI 3-kinase and Akt/PKB activations in ZDF rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **266**, 252–256.
- OKU, A., UETA, K., ARAKAWA, K., ISHIIHARA, T., NAWANO, M., KURONUMA, Y., MATSUMOTO, M., SAITO, A., TSUJIIHARA, K., ANAI, M., ASANO, T., KANAI, Y. & ENDOU, H. (1999). T-1095, an inhibitor of renal Na^+ -glucose cotransporters, may provide a novel approach to treating diabetes. *Diabetes*, **48**, 1794–1800.
- OKU, A., UETA, K., NAWANO, M., ARAKAWA, K., KANO-ISHIHARA, T., MATSUMOTO, M., SAITO, A., TSUJIIHARA, K., ANAI, M. & ASANO, T. (2000). Antidiabetic effect of T-1095, an inhibitor of Na^+ -glucose cotransporter, in neonatally streptozotocin-treated rats. *Eur. J. Pharmacol.*, **391**, 183–192.
- PIERCY, V., TOSELAND, C.D.N. & TURNER, N.C. (1998). Potential benefit of inhibitors of advanced glycation end products in the progression of type II diabetes: a study with aminoguanidine in C57/BLK J diabetic mice. *Metabolism*, **47**, 1477–1480.
- PORTE, JR. D. & SCHWARTZ, M.W. (1996). Diabetes complications: why is glucose potentially toxic? *Science*, **272**, 699–700.
- ROBERTSON, R.P., ZHANG, H.J., PYZDROWSKI, K.L. & WALSETH, T.F. (1992). Preservation of insulin mRNA levels and insulin secretion in HIT cells by avoidance of chronic exposure to high glucose concentrations. *J. Clin. Invest.*, **90**, 320–325.
- ROSSETTI, L. (1995). Glucose toxicity: the implications of hyperglycemia in the pathophysiology of diabetes mellitus. *Clin. Invest. Med.*, **18**, 255–260.
- ROSSETTI, L., GIACCARI, A. & DEFRONZO, R.A. (1990). Glucose toxicity. *Diabetes Care*, **13**, 610–630.
- SILVERMAN, M. (1991). Structure and function of hexose transporters. *Annu. Rev. Biochem.*, **60**, 757–794.
- SILVERMAN, M. & TURNER, R.J. (1992). Glucose transport in the renal proximal tubule. In *Handbook of Physiology*, ed. Windhager, E.E. pp. 2017–2038. Oxford: Oxford University Press.
- TAJIRI, Y., MÖLLER, C. & GRILL, V. (1997). Long-term effects of aminoguanidine on insulin release and biosynthesis: evidence that the formation of advanced glycosylation end products inhibits B cell function. *Endocrinology*, **138**, 273–280.
- TAYLOR, S.I., ACCILLI, D. & IMAI, Y. (1994). Insulin resistance or insulin deficiency. Which is the primary cause of NIDDM? *Diabetes*, **43**, 735–740.
- TSUJIIHARA, K., HONGU, M., SAITO, K., INAMASU, M., ARAKAWA, K., OKU, A. & MATSUMOTO, M. (1996). Na^+ -glucose cotransporter inhibitors as antidiabetics. I. Synthesis and pharmacological properties of 4'-dehydroxyphlorizin derivatives based on a new concept. *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)*, **44**, 1174–1180.
- TSUJIIHARA, K., HONGU, M., SAITO, K., KAWANISHI, H., KURIYAMA, K., MATSUMOTO, M., OKU, A., UETA, K., TSUDA, M. & SAITO, A. (1999). Na^+ -glucose cotransporter (SGLT) inhibitors as antidiabetic agents. 4. Synthesis and pharmacological properties of 4'-dehydroxyphlorizin derivatives substituted on the B ring. *J. Med. Chem.*, **42**, 5311–5324.
- UK PROSPECTIVE DIABETES STUDY (UKPDS) GROUP. (1998). Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet*, **352**, 837–853.
- UNGER, R.H. & GRUNDY, S. (1985). Hyperglycaemia as an inducer as well as a consequence of impaired islet cell function and insulin resistance: implications for the management of diabetes. *Diabetologia*, **28**, 119–121.

(Received April 24, 2000

Revised October 30, 2000

Accepted November 6, 2000)

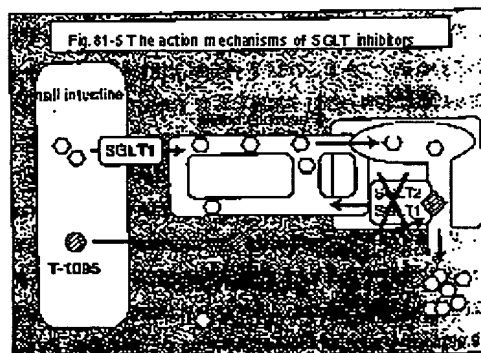
Page 1101, lines 15-18:

Tendency of the Development of α -Glucosidase Inhibitors

As α -glucosidase inhibitors which have a unique action mechanism suppressing hyperglycemia after a meal temporarily and reversibly by inhibiting digestion and absorption of sugars caused by the meal, "Acarbose" (Glucoby from Byer) and "Voglibose" (Basen from Takeda pharmaceuticals Co., Ltd.) were on sale in 1993 and 1994.

Page 1106, line 20 to page 1107, line 2:

Orally-administrative depressant of blood sugar of the next generation aimed by Tanabe Pharmaceuticals K.K. and Kissei Pharmaceuticals K.K. is one rectifying hyperglycemia state by discharging an excess of sugar from the body owing to inhibition of a Na+glucose cotransporter (SGLT). Because of its mechanisms, when a blood-sugar level deteriorates to the normal condition, glucose is not discharged any more. Thus, a side effect of hypoglycemia can be avoided.



The SGLT inhibitor inhibits reabsorption of glucose, which is filtered by glomeruli of the kidney, by SGLT of the epithelial cells of the proximal tubules (Fig.81-5).

The glucose in blood is filtrated by glomeruli of the kidney, and the glucose moved into the filtrate (the glomerular) is reabsorbed at the proximal tubules to be returned into the circulated blood. Thus, when the blood sugar is in a normal condition, 100% of the glucose is reabsorbed and utilized thoroughly without a waste. However, when there is an excess of calories in the body, it is also considered that it is preferable for the living body that such a mechanism does not work. Based on such an idea, it is said that the aim of the SGLT inhibitor is to suppress the reabsorption of the glucose excess in the living body and to discharge the glucose from the body.

海外では米Savientファーマシューティカルズ社がPEG化ウリカーゼとして「Puricase」のフェーズⅢを行っている。

SU剤・BG剤・グリタゾン・α-GI・インスリン分泌促進剤 81 経口糖尿病用剤



総合分析

WHOによると糖尿病の世界人口は2000年時点で1億7000万人余りとみられるが、30年後の2030年には3億6000万人に倍増する(Prog Med 25(1)9-14(2005.1))。

厚労省糖尿病調査研究班は1989年から「国民生活意識調査」をもとに患者数を推定していたが、1993年その数字は500万人以上、

40歳以上の10人に1人に達していたことがわかった。1996年の厚労省の「患者調査」では、この年に237万4000人が実際に治療を受けたが、これは25年前の約4倍である。この時点で、糖尿病の一般診療費は8000億円を超え、10年で2.5倍以上伸びていた。この数字に糖尿病による合併症の医療費を加えると、膨大な額となる(臨床成人病 28(3)279-283(96.3))。

この数字に専門家や厚労省は日本の糖尿病治療対策がすでにレッドゾーンにきていていると感じていた。そして、厚労省が1997年に実施した初めての大きな実態調査の結果、「糖尿病予備群」と呼ばれる「糖尿病の可能性がある人」と「糖尿病が強く疑われる人」を合わせると1370万人に達することが明らかにになった(総合臨床 47(6)1812-1818(98.6))。

この調査で最も注目されたのが予備群680万人の存在。発症一歩手前の状態であるが、大規模試験では、予備群の段階でも動脈硬化が進み、心筋梗塞や脳卒中などの致命的な合併症の危険性が倍増することが判明している。そして、1996年から1997年にかけて発表された「UGDP」や「熊本スタディ」では、インスリンでも経口剤であっても血糖の正常化が合併症を予防することが証明され、「予備群の患者にきめ細かく指導することが重要」との考えが急速に浸透した(medicina 37(13)1908-1911(2000.12))。

「糖尿病予備群680万人」という衝撃的な調査結果から5年。厚労省は2001年11月に2回目の糖尿病実態調査を行った。これによると、糖尿病患者は推計740万人、5年間で50万人の増加にとどまった。

前回の調査を受けて厚労省は「このままでは、2010年には有病者が1080万人に達する」と予想し、「健康日本21」でこれを1000万人に抑制するという目標を掲げたが、「予想したほど増えていない」と指摘している。しかし、予備群は5年前から200万人も増えて880万人となり、両方を合わせると1620万

患者数	740万人(2002)
潜在患者数	1620万人(2002)
(先進国)	4300万人(2001)
(中国)	2000万人
(米国)	1700万人
(英国)	1800万人(2004)
(インド)	1840万人(2000)
(全世界(推定))	1億7000万人(2000)
経口糖尿病用剤市場規模	1150億円(2003)
(先進国)	6900億円
(全世界)	90億ドル(2003)

人に達した(図8-1)。糖尿病にかかる医療費は2000年度すでに1兆1155億円(前年比3.5%)に達し、予備群の急増で「予断を許さない状況」が続いている。

患者数の増加以上に市場拡大の要因となっているのは、1990年代になって次々と登場してきた新薬である。次々といっても、同じ「生活習慣病」である高血圧症の治療剤が年2～3製剤ずつ発売されてきたのに比べると、糖尿病治療剤は10年間でわずか6成分でしかない。だが、それでも1980年代まではインスリンを除くと10年に1製剤あるか無いかであったことを考えると、格段の多さといえる。しかも、1990年代になって登場してきたこれらの新薬が、市場をほぼ独占しているのである。

糖尿病治療利は、インスリンも含め「次世代」と呼べる新薬がその後も次々と開発されているが、それでも完全な血糖のコントロールには程遠く、課題も多い。さらに、合併症の予防・治療では多くの課題を抱えている。

経口糖尿病用剤の市場動向

IMSヘルスケア社によると世界的な患者数の増加で、治療剤の市場は平均32%の伸び率で急拡大している。現在腫瘍血腫降下剤だけで2003年の全世界の市場規模は300ドルで、前年より10%伸びた。糖尿病は、高血圧症、高脂血症とともに代表的な生活習慣病であるだけに世界の大手製薬企業の間とこがコア領域に位置付けており、それだけに開発競争も激しくなっている。

健康豚の9割を占める2型糖尿病の血糖コントロールの改善を目的とする経口血糖降下剤は、作用メカニズムからインスリン分泌の低下を改善するスルホニル尿素 (SU) 剤、逆発型インスリン分泌促進剤 (グリニド剤)、インスリン抵抗性を改善するチグリアイド (BGLT) 剤、チアゾリジン系インスリン抵抗性改善剤 (グリタゾン剤)、糖吸収を阻害する α -グルコシダーゼ阻害剤 (α -GI 剤) などに分類される (表81-1) (日経メデikal No.426:40-43(2003.5))。

歴史的には1950年代の第1世代SU剤（トルナタミド）、1960年代のBG剤（塩酸メトフアルミド）、1970年代の第2世代SU剤（グリクラジド）と、それこそ10年に1種ずつが導入されてきたが、1990年代には、 α -GI（ボグリボーズ）、グリニド剤（ナチグリニド）、第3世代SU剤（グリメグリド）、グリタゾンナ剤（塩酸ヒオグリタゾン）と、4種の経口血糖降下剤が実用化された（表31.2）（マデイカル明日 34（1985-86/2005.11））。

日本の経口糖尿病用剤（血糖降下剤）の市場は、1994年は230億円であったが、10年後の2003年は

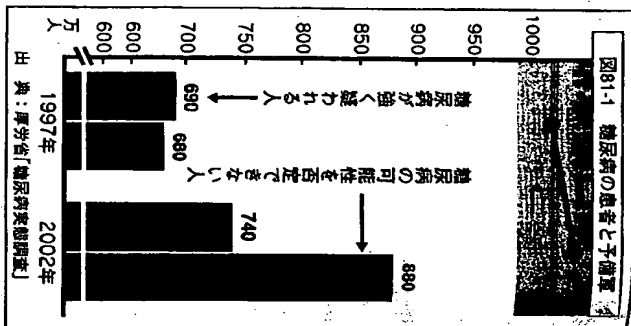


表81-1 主な経口糖尿病用剤

[illegible]

1150億円まで拡大した。5倍の上昇

事である (図81-2)。

その市場は、 α -GI阻害剤が加わった1994年は、SU剤と α -GI阻害剤でそれぞれ140億円、90億円であった。

しかし、その後はα-GI阻害剤が急激に増え、1996年は305億円でトップとなった。その後も2社のα-GI阻害剤（武田薬品のベイスン、バイエル薬品のグルコバク）の勢いは止まらず、

表81-2 糖尿病用剤の歴史

- SU 劑 (トルブタマイト) 発売
- ビクアネイド 劑 (メトホルミン) 発売
- スルホブジミド 劑 (グリブゾール) 発売
- インスリン自己注射保続適用
- 超換えインスリン発売
- AR 阻害劑 (エパルシスタット) 発売
- α-グルコシダーゼ阻害劑 (アカルボース) 発売
- インスリン抵抗性改善劑 (トロリタゾン) 発売
- インスリン分泌促進劑 (ナチグリニド) 発売

1999年には薬品で約455億円と市場の半分近くを占めるようになった。2000年は500億円を超え、2003年はさらに90億円と血糖降下剤市場の約60%を占めた。SU剤も、 α -グルボ糖剤、インスリン抵抗性改善剤、速効性インスリン分泌促進剤の登場の拡大で市場が刺激され、右肩上がりで推移している。

運輸住宅インフラ分散化促進策の1番手として「1999年8月に発売された『チタニウム三』」（味の素・サッポロ）が、その後のチタニウム市場を形成してきた。チタニウムは2000年2月から三共の40億円、そして2001年は55億円と順調に市場を形成してきた。チタニウムは2002年2月から三共の販売となり、スターシスと合わせると76億円と1.5%のシェアを獲得し、2003年はさらに55億円と伸びたため、シェアは横ばいであった（表B1-3）。

グリタゾン剤は1997年にトログリタゾンが1製品で80億円市場を形成したが、肝毒性の副作用の報告から販売中止となった。2000年はこの年に登場した塩酸ビオグリタゾン（武田薬品のアクトス）1製品

のみで56億円、2001年は76億円、2003年は116億円を売上げた。

新規SU剤では、アベンタイスファーマの「グリメグリド」(商品名・アマール)が2000年4月に発売され、2000年の20億円から2001年は倍増し、早くも自社のグリベンクラミド(ダオニール)を上回り、2003年は100億円を突破し、110億円に達した。同剤は、従来のSU剤が持つ降糖作用(インスリン分泌促進)に加えて、降糖作用(インスリン抵抗性改善作用)、さらには糖輸送能増強作用(インスリン作用増強)を持つことが大きな特徴である。グリベンクラミドの継続品として欧米では1996年から発売されている。

特にグリタゾン剤は、インスリン抵抗性を解除することにより血糖や脂質を改善し、低血糖の危険も少ないことから、糖尿病患者1600万人中インスリン抵抗性患者1400万人といわれる米で急速に売上げを伸ばした。初めはSU剤の市場規模(1995年まで約7億ドル、1996年約5億ドル)を奪うように、その後はSU剤に上乗せして、1996年約4億ドルから2001年には17億ドルにまで拡大した(月刊ミクス27:70(99.11))。

日本人はインスリン分泌が不足しているタイプが多いといわれたが、生活習慣が欧米化し、若年層でインスリン抵抗性の患者が増加したため、2001年は武田薬品のグリタゾン剤アクトス1製品だけで症

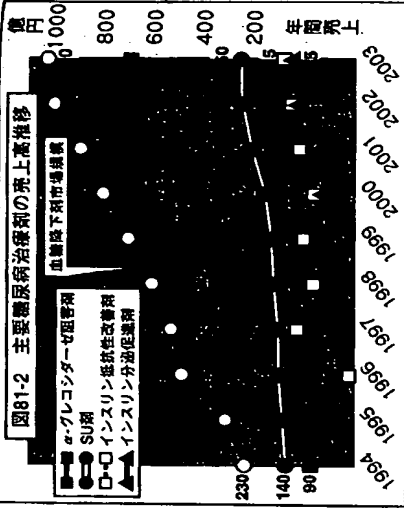


図81-2 主要糖尿病治療剤の売上高推移

表81-3 経口糖尿病用剤の売上高上位品目

作用機序	成分名	商品名	会社名	発売年月	年商(億円)
SU剤	グリメグリド	アマール	アベンタイス	99.00	01.02.03
	グリクラジド	グリミクロン	大日本製薬	00.4	- 17.47.90.110
	グリベンクラミド	ダオニール	アベンタイス	84.5	61.61.59.52.50
	グリベンクラミド	オイグルコン	アステラス製薬	71.10	45.40.40.35
	グリベンクラミド	オイグルコン	中外製薬	71.10	68.69.67.63.29
インスリン	ナテグリニド	ファスティック	味の素-三共	99.8	8.20.25.41.54
	ナテグリニド	スターシス	アステラス製薬	99.8	11.21.29.37.41
	インスリン抵抗性改善剤	経口ヒオグリタゾン	アクトス	99.12	7.56.76.95.116
	α-グルコシダーゼ阻害剤	ボグリボース	武田薬品	94.9	353.415.471.510.569
	α-グルコシダーゼ阻害剤	アカルボース	グルコバイ	93.12	100.105.110.100.110

*2002年2月までアベンタイスが販売

口血糖降下剤の83%を占めた。

世界市場では、GSK社と武田薬品がトップとなり、経口血糖降下剤のトップを争っている。

開発段階	治験薬名	会社名
申請中	マレイン酸ヒオグリタゾン	GSK
申請中	+SU剤併用療法	GSK
フェーズIII	+α-GI剤併用療法	GSK
申請中(米)	経口ヒオグリタゾン	武田薬品
	+メトホルミン併用療法	武田薬品

は、米で1999年に、欧でも2000年に発売した。2003年には欧米でグルコファージ(経口メトホルミン)との配合剤(アバンダメット)を発売し、2003年のアバンダメット/アバンダメットの売上高は9億5300万ポンド(約1780億円)。これに対して、武田薬品のアクトスは、欧市場の一部と主戦場の米市場でイーライリリー社の販売権を得て、約1800億円。

日本でもグラクソ・スミスクラインがアバンダメットの発売を控えており、グリタゾン剤の先駆者である三共と共同販売する予定で、激しいシェア争いが予想される。米では、GSK社のアバンダメットは1日2回投与であるのに対しアクトスは1日1回投与というメリットから経口糖尿病治療剤のシェア約10%で、アバンダメット(約9%)を若干リードした。しかし、GSK社は合剤のアバンダメットで約3%を上乗せし、米市場でリードした。そのため日本でも今後は、SU剤、α-GI剤との併用療法が焦点となる(表81-4)。

「2型糖尿病はインスリン分泌不全とインスリン抵抗性が共存しているもので、これらとの併用は理にかなっている」といわれ、SU剤で血糖コントロールが不十分な例に併用すると半数に効果がみられるという(カレントセラピー21(2)168-171(2003.2))。

1970年後半に副作用が広がったため使用頻度が減少したが、近年の大規模試験からその地位を取り戻したBG剤との併用にも注目が集まっている。同じインスリン抵抗性改善作用のあるBG剤とグリタゾン剤に併用効果がある理由は、「BG剤が主に肝での糖産生を抑制するのに対し、グリタゾン剤は主に筋肉での糖利用を促進するため」と説明されている(N Engl J Med 338(13)867-872(98.3.26))。

武田薬品は、米アンドレックス社が開発した1日1回投与の徐放性塩酸メトホルミン(フォルタメット)と経口ヒオグリタゾンとの合剤「アクトブラスメット」を2004年10月に米FDAに申請した。GSK社は再逆転し、さらにリードを奪いたいところ。

経口糖尿病用剤の開発動向

武田薬品とGSK社の大成功で、全世界で次世代のグリタゾン剤の開発競争が始まった。次世代グリタゾン剤は、第1世代の作用メカニズムである核内受容体ベルオキシゾーム増殖因子活性化受容体(PPAR)作用性を継承しているが、必ずしも第1世代のチアゾリジンジション(TZD)骨格を持つものではない点が特徴であることから、「次世代PPAR作用剤」と呼ばれる。加えてこれら次世代の目玉は、PPARのサブタイプ(α、β、γ、δ)のうち、脂質代謝に関連するαとδを作用する点

表81-5 次世代PPAR作動剤

開発段階	治験番号	種別PPARサブタイプ	会社名
臨床フェーズⅣ・日本フェーズⅡ中止	TAK-559	α , γ	武田薬品
フェーズⅡ中止	KOP-297	α , γ	杏林製薬、メルク
臨床フェーズⅣ中止	ラグリタサル	α , γ	デルタ、ノバルティス
フェーズⅡ中止	レグリタサル	α , γ	日本たばこ産業、フアイザー
米特許・日本フェーズⅡ	ラグリタサル	α , γ	BMS、万有製薬
臨床フェーズⅡ	TAK-654	α , γ	武田薬品
臨床フェーズⅡ	FK-614	γ	アステラス製薬
臨床フェーズⅡ・日本フェーズⅠ	R483	γ	中外製薬
臨床フェーズⅡ	リボグリタゾン	γ	三井
フェーズⅡ	メタグリタセン	α , γ	メタボリック
臨床フェーズⅡ	ネトグリタゾン	α , γ	三菱エルフアレー
臨床フェーズⅡ	K-111	α	興和
臨床フェーズⅡ・日本フェーズⅠ	ONO-5129	α , γ	小野薬品
臨床フェーズⅠ	E3030	α , γ	エーザイ
臨床フェーズⅡ・日本フェーズⅡ	テグリタサル	α , γ	アストラゼナカ
臨床フェーズⅡ	PLX204(糖酸化化合物)	α , γ , δ	ライス、ジェンコン
臨床フェーズⅡ	CS-7017	γ	三井
臨床フェーズⅡ	TY-12780	α , γ	トプアイコー

(表81-5)。

α と δ は脂質代謝に関連し、 β や γ , δ はインスリン抵抗性を改善するため、それぞれ高脂血症、血糖降下剤となる。そこで、塩酸ヒオグリタゾンとロソグリタゾンのようにPPAR γ のみを働かせる第1世代に代わって、複数のサブタイプを作動させる薬剤が次世代の有力な候補となった。

しかし、これらの次世代PPAR作動剤は、先行していた杏林製薬/メルク社の「RPP-297」、デルタ/ノバルティス社の「ラグリタサル」(DNF-2725) などと相次いで臨床試験で毒性が認められ撤退したため、進行がややしくなり始めた。相次ぐ発症性を重くみた米FDAがPPAR系薬剤は2年間マウスなどに投与して毒性試験を行うよう各社に勧告したためである。

これにより、フェーズⅡ後にフェーズⅢに入るまでにかかりの空白期間が生じることになる。次世代のPPAR作動剤「FK-614」のフェーズⅢ入りを目指していたアステラス製薬はフェーズⅢに進める時期を2005年から2007年頃まで延長することを決めた。「テグリタサル」(商品名ガリタ)がフェーズⅢのマウスマウスでも追加試験を続けることを決定し、申請計画を1年延ばした。ガリタは、発売されれば糖尿病だけでなく、メタボリックシンドロームや多嚕嚕性卵巣症候群の治療剤としての可能性もあることから、年間7億3000万ドルの売上げも予想されていた。

BMS社は、ラグリタサルの2年間にわたる追加試験を終了し、勧告から除外されたため2004年末に米で申請した。一方、同じく勧告から除外された武田薬品はアトラスに続く国際製薬品として「TAK-559」を2007年以後に発売する予定であったが、フェーズⅢで少数の症例に肝機能の異常が発生した。肝機能の異常は三井/GSK社が発売中止した第1世代の「ノスカール/レズリン」(トログリタ

表81-6 運動性インスリン分泌促進剤の開発・開発状況

開発・開発段階	商品名	会社名
99.8発売	ミチグリンニド	味の素・三井、アステラス製薬
04.5発売	ミチグリンニド	キッセイ薬品=武田薬品
フェーズⅡ	レバグリンニド	ノバルティス、住友製薬
臨床	相違点GUP-1	サントー、三井

ソフ) にも認められたもので、武田薬品は2004年12月にTAK-559の臨床試験を中断し、安全性をはじめる臨床データを開示した。しかし、「既存薬に比べ優位性がない」とする結論に達し、2005年3月に中止することに決定した。今後は、日米欧でフェーズⅡの「TAK-654」の開発費を集中することになる。TAK-654はTAK-559のバグリアン品として開発していたもので、2010年頃に特許が切れるアトラスの後継として2010年までに発売するとしているが、間に合いかは微妙な状況である。

α -グリコジンダーゼ (α -GI) 阻害剤が登場する1993年までの経口血糖降下剤は、スルホニル尿素(SU) 剤、ヒオグリタイド (BG) 剤のみであった。しかも1970年代後半BG剤の重大な副作用が問題となってきたことは、ほとんどをSU剤が占めるようになり、BG剤は作用の弱いもののみが使われている(最新医学 53(6)1167-1174(98.6))。

BG剤の副作用が最も問題となった米では、1995年から処方再開されるようになり、BG剤のもつインスリン抵抗性改善作用が見直されてきている。ヒューマンサイエンス (HS) 財団のアプローチでは、SU剤やインスリン抵抗性改善剤を上回り、糖尿病治療剤開発で「最も重要」とされた(インスリン非依存性糖尿病 (NIDDM) 米国調査-日米比較 (ISS財団, 1997年))。

日本では、SU剤に代わるものとして「運動性インスリン分泌促進剤」が注目されている(表81-6)。これらは、構造もSU剤とは全く異なるが、吸収が速く、血中からの消失も速やかという特徴がある。極めて短時間のみ血糖降下作用を現わす。その結果、SU剤の最大の欠点である長時間のインスリン分泌刺激によって起こる「低血糖」の副作用が少なくなった(日本医事新報 No.3725: 3,13(95.9.16))。

運動性インスリン分泌促進剤の2番手となるキッセイ薬品の「ミチグリンニド」も日本では2004年5月に発売した。

ミチグリンニド(グルファスト錠5mg, 10mg) は、従来のインスリン分泌促進剤であるスルホニル尿素 (SU) 剤と異なり、化学構造上スルホニル尿素基を持たないベンジリコハク酸誘導体の化合物で、作用発現がSU剤に比べて速く、短時間作用という特徴があり、臨床試験では投与15分後からインスリン分泌促進作用がみられ、2時間後に消失した。また、2型糖尿病に対し、食前30分以内の食事で食後高血糖を早期に改善し、その結果、空腹時血糖値、HbA_{1c}値を改善した。

同剤のインスリン分泌促進作用は、 β 細胞に存在するSU受容体 (SUR1) を介して発現し(図81-3)、インベトロでの効力は同じ運動性インスリン分泌促進剤であるナラグリニドより約100倍強力である。

「24週以内の薬物治療なしの患者」や、「SU薬以外での治療歴のある患者」に治療効果が認められている。食事療法のみで十分な血糖コントロールの得られない2型糖尿病患者34例に対する二重盲検試験で、1回10mg 1日3回でHbA_{1c}値を対照のボグリボース (1回0.2mg) と同様に変化後より12週後

キッセイ薬品は、1995年10月に仏セルヴィエ社に既32ヵ国、1996年12月2日には日本、中国、台湾を除くアジア、ロシア、中東、アフリカ、オセアニアにも拡大して独占的販売権を供与したと発表された。さらに2001年6月20日、香港、中国、台湾での開発販売権も供与した。

一方、米などでは1997年にパデュエファーマ社に米、カナダ、メキシコ、中南米諸国での独占的販売権を供与、フェーズⅡまで進めた。しかし、パデュエファーマ社は2001年2月9日に倒産したと発表された。現在、子会社のキッセイファーマUSAインクがフェーズⅡを行っているが、北中米では早期に他社へライセンスアウトする予定である。

韓国では、チョンウエ製薬に技術供与する契約を締結し、チョンウエ製薬が韓国で独占的に開発・販売することになった。

ノボ ノルディクスファーマの「レバグリニド」(商品名・ノボノルム)は、1999年に武田薬品と販売提携したが、国内開発遅延のため契約終了、2004年9月に住友製薬とライセンス契約を締結、住友製薬はフェーズⅡを開始した。欧米(商品名・プランディン)では1997～1998年に販売が開始された。レバグリニドの特徴は、代謝物のほとんどが胆汁中に排泄され、腎臓血中へも安全に投与できるとである(日本臨床 55(糖尿病特集2)180-185(97.11))。

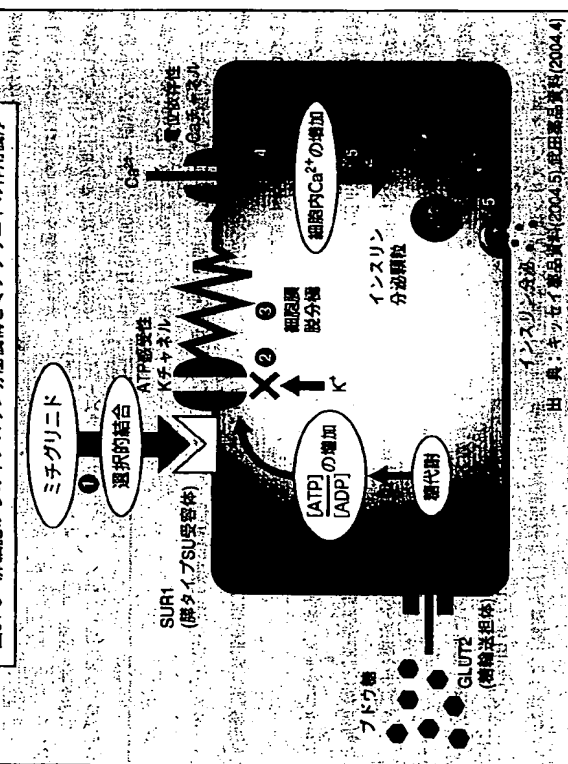
α-グルコシダーゼ阻害剤の開発動向

食事による糖質の消化・吸収を阻害することで、一時的・可逆的に血糖の急激な上昇を抑えるというユニークな作用機序を持つα-グルコシダーゼ阻害剤は、1993年と1994年に「アカルボース」(バイエル薬品のグルコバイン)、「ボグリボース」(武田薬品のベイスン)が発売された。いずれも運動・食事療法が主であった軽症の糖尿病患者が対象というところもあり、予想以上の売上げとなっている。武田薬品は、全国4万5000件の医療機関にベイスンを納入しており、インスリン抵抗性改善剤の「アクトス」やキッセイ薬品と共同販売予定の「ミナグリニド」など別のタイプの薬剤の売り込みにも効果的に進めている。特に、ベイスンは2番手ではあったが、発売後急速に市場を広げ、逆にグルコバインに水を空けつつある。

グルコバインが血糖上昇抑制の方に重点を置いて、50～100mgの用量に設定したのに対して、ベイスンは、α-グルコシダーゼ阻害剤の副作用である消化器症状(腹瀉、満腹感など)の抑制に重点を置いて0.2～0.3mgを設定したので大きく効いている(最新医学 53(6)1175-1180(98.6))。

バイエル社は20ヵ国でアカルボースを販売し、世界売上高は350億円(2001年)に達した。同社のカナダ、独、北米などの国際的な大規模介入試験(STOP-NIDDM)は2型糖尿病発症予防効果を検討するプラセボ対照無作為化比較試験であり、耐糖能異常者1429人を対象としたものである。耐糖能異常の人は食後に血糖値が異常に上昇し放置しておく2型糖尿病に移行しやすい。フォロー期間は平均3.3年であったが、アカルボースは1回の経口糖負荷試験に基づき評価で、2型糖尿病発症の危険度を24.8%、2回測々の同試験で36.4%減少させた(Lancet 359(9323)2072-2077(2002.6.15))。

図B1-3 膵細胞からのインスリン分泌機構とミチグリニドの作用機序



① ミチグリニドは、膵β細胞のKATPチャネル(ATP感受性Kチャネル)を構成するSUR1(2004.5)とKATPチャネル(SUR1)に選択的に結合する。② ミチグリニドとSUR1の結合によりKATPチャネルが閉鎖される。③ KATPチャネルの閉鎖により細胞膜が脱分極を起こす。④ 細胞膜の脱分極が生じて電位依存性Ca²⁺チャネルが開き、細胞内にCa²⁺が流入する。⑤ 細胞内Ca²⁺濃度が上昇してインスリン分泌顆粒を誘発し、インスリンが分泌される。

までプラセボが群より有意に低下させた。最終評価時のHbA_{1c}の低下量はボグリボースより有意に低下させた。一方、空腹時血糖値の改善についてはミチグリニドの方がボグリボースより有意に上回った。低血糖の発現も3例でプラセボ(3例)、ボグリボース(5例)と有意差はなかった(日本糖尿病学会(47回)JL-D7-2(2004.5))。357例に対する52週間の長期投与試験でも長期に渡って血糖値改善を示し、低血糖症は9.8%(35/356)に認められたが、長期投与で副作用の頻度が高くなることはなかった。承認時の評価対象例504例でも副作用は20.9%(105/504)で、低血糖症は5.6%(45例)に発現した。

キッセイ薬品と武田薬品は、2004年3月期両社で37億5000万円(決算ベース)、2005年3月期で約37億5000万円、将来的には300億円の売上目標を掲げている。キッセイ薬品の竹内正幸・取締役医薬営業部長は「2型糖尿病患者さんの第一選択薬のひとつになるよう考えている」と期待感を表明。武田薬品の山岡隆雄・取締役医薬営業部長は「ベイスン、アクトスに本剤が加わったことでインスリン分泌不全・抵抗性・食後高血糖を改善する3剤が揃った。現在の約600億円から3剤で、近いうちに1000億円、ピーク時で1300～1500億円(薬価ベース)の売上を目指す」と意気込みを示した。

次世代のα-グルコシダーゼ阻害剤「ミグリトール」。「エミグリチナート」は、いずれも独バイエル社がグルコバインに続いて開発したもので、ミグリトールは、既ではサノフィ・アベンティス社に、米ではアムレシア社に導出した。同剤は、既存品も含めて最も分子量が低く、グルコバインに比べて消化器症状を抑えてある。ミグリトールは、三和化学が導入し2000年からフェーズⅢを実施、2003年12月に申請した。2004年12月、三和化学は住友製薬と共同販売契約を締結、ヒール期2004年を期する。一方のエミグリチナートは、日本では三菱ケルファーマーが導入したがフェーズⅡで中止となった。

次世代糖尿病用剤

現在、従来の市販薬にはない作用メカニズムを持つ糖尿病治療剤として注目されているのが「インクレチン作用剤」と呼ばれるもので、「DPP-Ⅳ阻害性GLP-1アナログ（受容体作動剤）」と「DPP-Ⅳ阻害剤」の2つの方向からアプローチが行われている。

インクレチンは膵β細胞からのインスリン分泌を促す消化管ホルモンで、食物を摂取されると小腸から放出される。

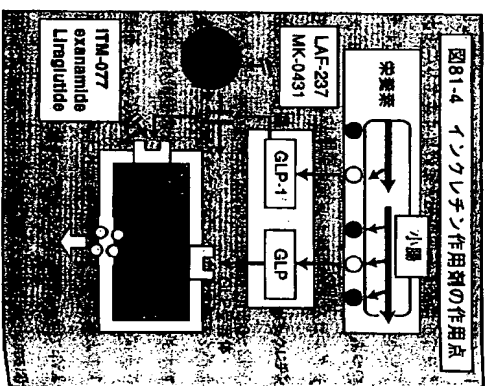
インクレチンは、すでに約40年前にブドウ糖を経口投与した場合、膵臓内に投与した場合に比べ多くのインスリン分泌を促進することから食物の摂取後に放出される因子（消化管ホルモン）として発見された。食物を摂取したという情報を受けてインクレチンが分泌され、速やかに膵β細胞へ伝えられ、インスリン分泌を刺激して、食後の急激な血糖上昇を抑え、血糖を一定に保つとするものである。

インクレチンには、GIPとGLP-1の2つのホルモンがある。

そのうちGIPは上部小腸にあるK細胞から分泌され、GLP-1は下部小腸にあるL細胞から分泌されて、膵β細胞のそれぞれの受容体を介してインスリン分泌を促す（図81-4）。

1996年になり、GLP-1受容体を欠いたノックアウトマウスが作られ、このマウスでインスリン分泌が低下していること、膵細胞が低下していることが発見された。続いて京都大学医科学の清野裕氏らもGIP受容体ノックアウトマウスが膵細胞低下と初期インスリン分泌障害を示すことを発見し、糖尿病ではGLP-1とGIPによるインスリン分泌が障害されていることが確定した（日本科学会誌 93(S)48-51(2004.220)）。

2型糖尿病でインクレチンのシグナルが低下す



ると膵機能が低下していることから、そのシグナルを増強すれば糖尿病の新しい治療法につながることに期待された。しかもGIPやGLP-1は、ブドウ糖濃度が低い時にはインスリン分泌を促進せず、高い時にはインスリン分泌を刺激する。このことはブドウ糖濃度が高い時、すなわち血糖値が高い時に効力を発揮し、血糖値が低い時にはこれ以上血糖値を下げないことを意味するので、血糖降下剤について回る「低血糖の副作用」が解消される可能性がある。さらに、SU剤は薬効が持続している間血糖を下げ、インスリンの分泌を促すが、インクレチン作用剤の場合、食後の高血糖の間だけインスリンを分泌するよう膵臓の細胞に指令するので、膵臓細胞を疲弊させないのもメリットである。

インクレチン作用剤の臨床応用は、まずGLP-1そのものの注射剤が使われた。

その結果、SU剤が無効になった2型糖尿病の症例に、GLP-1を持続投与すると、血糖値の急激な上昇が抑えられ、血糖値が改善されることが確認された。しかし、GLP-1はペプチドであるため血中で体内のシグナル・ペプチダーゼⅣ（DPP-Ⅳ）という酵素によって簡単に分解されて活性を失ってしまうのが欠点である。

そこで、GLP-1の血中持続性を延長するための製剤が考案された。

イーライリリー社は、GLP-1の持続性低下注製剤「LY307168」のフェーズⅢを米で進めているが、2型糖尿病患者に3週間連日投与した臨床試験で、4時間後食後血糖値の上昇を改善することを見いだしている（敗血症学会誌 38(9)A64122(2002.2)）。

GSK社が2004年10月に米ヒューマンゲノムサイエンス（HGS）社から導入した「アルブミン」は、組織エヒトGLP-1とヒト血清アルブミンの融合蛋白。

血中動態はほぼアルブミンと同様であるため、血中半減期が約2週間に及び、週1回投与が可能である。

GLP-1受容体発現細胞や野生型を用いたインビトロ試験、GLP-1受容体欠損マウスを用いたインビボ実験など、現在は前臨床段階（Diabetes 53(9)2492-2500(2004.9)）。

exenatide-4と比較するとやや作用は弱いという指摘もある（ホルモンと臨床 53(2)239-243(2005.2)）。

第一サントリフーマーは、組織交換技術を用いてGLP-1の7番目から36番目の断片ペプチドを大腸菌に組み込んで大量合成する方法を確立しているが、聖マリアンナ医科大学の柳川明氏を中心とした医薬品技術ベンチャーのドットと共同で開発した経鼻製剤技術を基にして経鼻スプレー剤の臨床応用を目指している。2001年には三共と「SUN E7001/CS-872」として国内で共同開発することに合意した。海外では第一サントリフーマーが単独でフェーズⅢに着手している（表81-7）。

続いて、DPP-Ⅳによって分解されないGLP-1アナログが考案された。アミリン社が開発し、イーライリリー社と共同開発し、2005年6月に米で世界初のGLP-1として発売したByetta（エグゼナチド）は、天然のGLP-1受容体アゴニストで、GLP-1アナログの「exenatide-4」である。

exenatide-4は、39個のアミノ酸からなり、GLP-1とアミノ酸の53%同一である。GLP-1の末端から2個目のアミノ酸がプロリンカアラニンの場合DPP-Ⅳの分解を受ける。天然のGLP-1はアラニンで終るた

表81-7 糖尿病治療薬の開発状況

作用機序	開発段階	治験薬名	会社名
GLP-1受容体作動剤	フェーズI	SUN E7001/CS-872	第一サントリアーファーマ、三井
	フェーズI	PM-077	帝人ファーマ
	フェーズI	リラグリチド	ノボルティスクファーマ
	フェーズII	シタグリプチン	万有製薬、小野薬品
DPP-IV阻害剤	フェーズII	ヒルダグリプチン	ノボルティスクファーマ
	フェーズI	TS-021	大正製薬
	臨床フェーズI	TA-6666	田辺製薬
	臨床準備中	E3024	エーザイ
α-グルコシダーゼ阻害剤	前臨床	SK-0403	三和化学
	前臨床	DPP-IV阻害剤	武田薬品
	フェーズII	レバグリニド	ノボルティスクファーマ、住友製薬
	申請中	ミグリトール	三和化学
β3受容体アゴニスト	フェーズII	N-5984	日清ファルマ、杏林製薬
	前臨床	KTO-7924	キッセイ薬品
	フェーズII	T-1095	田辺製薬
	前臨床	KGT	キッセイ薬品
SGLT阻害剤	前臨床	KGA-2727	キッポエー薬品、大日本製薬
	米フェーズII	CS-917	三井
	フェーズI	NN414	ノボルティスクファーマ
	前臨床	RSH-2083	三井
糖質受容体結合剤	前臨床	AR-610	NRLファーマ

め、分解されやすい。一方、exendin-4は2個目のアミノ酸がグリシンになっているため分解されにくく、血液中の半減期が長い。副作用として悪心があるが治療継続できるほどのもので、これまでの臨床試験では、1日1回～数回の投与で血糖を低下させた。

1ヵ月程度の長期の血糖コントロールの目安となるヘモグロビン値 (HbA_{1c}) の改善効果も認め、28日間投与したフェーズIIIでは、患者の43%がヘモグロビンの値が8%以下となったのに対し、コントロール群ではわずか5%の患者にとどまった。単投与した症例では、低血糖の発現もまれにしかなく、メトホルミンやSU剤と組み合わせて使うとそれぞれを単剤で使用した場合より効果的であった。

ノボルティスクス社が開発した「リラグルチド」もGLP-1アナログで、GLP-1とはアミノ酸の97%が一致する。特徴はアシル化された脂肪酸鎖を持ち、血中ではアルブミンと結合していることが多い。DPP-IVの分解を受けにくいこと。ヒトに投与した際の血中半減期は12時間にのぼり、1日1回の投与で済む点でメリットとなる。副作用は、投与を開始した初期に一時的にみられる悪心程度で、低血糖も含め重い副作用はみられていない。メトホルミンカリラグリチドを2型糖尿病の肥満患者210例に2週間投与した多施設無作為化二重盲検並行試験では、1日2回の皮下投与でメトホルミンを投与した場合と同程度に血糖値を改善した。また、食欲抑制効果も認められ体重のコントロールもできた(糖尿病学会 (38回)Abst126(2002.9))。ノボ社はフェーズIIIを計画しており、日本でも2003年にフェーズIに入った。

仏イブセン社がグローバル化商品として開発した「ITM-077」もGLP-1のアミノ酸の配列を一部変えてDPP-IVの影響を受けないようにしたアナログ製剤である。さらにITM-077は徐放性を持たせてあることで長時間作用が持続する。

ITM-077は、欧ではイブセン社が、米ではロジェ社が分担して臨床試験を進めている。日本では仏イブセン社と広範な製薬提携した帝人ファーマが2005年からフェーズIに入った。帝人ファーマは欧米でのデータを利用し、3週間同時申請を狙っている。

これまでのGLP-1受容体作動剤は静注か皮下投与、あるいは点鼻剤であるが、糖尿病は長期間の治療を考えると、やはりコンプライアンスの問題は重要である。

そのため、経口投与ができるDPP-IV阻害剤が考案された。

その中で最も先行したのがノバルティス社で、「NVP-DPP728」の臨床試験にいち早く取り組み、日本でも2005年までにフェーズIIの試験結果が発表された。

しかし、食田薬品のアクトスなどをライバルと見た場合、大躍進のためには1日1回の程度の投与が不可欠。そのため、ノバルティス社はNVP-DPP728より化学的に安定で1日1回投与が可能な「ビルダグリプチン」(LAP-237)の開発に着手した。すでに、欧米でフェーズIIIに入っており、2006年上期に申請と次世代1番手を目標とする。ノバルティス社は糖尿病市場で初の年間1000億円レベルの大型商品に育つことを目指している。日本でも2010年までに発売し、その後100億円以上の商品に育てる。

ビルダグリプチンは、2型糖尿病患者でHbA_{1c}値を軽度の患者では0.7%、中等度から重症患者では1.7%低下させた。また、プラセボと比較して空腹時の血糖値、それに食後4時間後の血糖値を改善し、24時間平均の血糖値も低下させた(米糖尿病学会 (34回)354-OP(2004.6))。GLP-1アナログにみられる悪心や嘔吐といった副作用が少ないことも確認できた。

ただ、DPP-IV阻害剤単剤ではGLP-1受容体アゴニスト並みに血中GLP-1濃度を上昇させることは不可能ともいわれる。このため、ノバルティスファーマは単独療法と同時に他の経口血糖降下剤との併用試験も実施している。

DPP-IV阻害剤は今のところ、副作用はそう単純などで重篤なものはなく、単投与で低血糖はみられていない。しかし、DPP-IVの分解活性を高度に全身投与した場合、特に免疫関連への影響といった波及効果は不明という指摘もある(ホルモンと臨床 53(2)239-243(2005.2))。

メルク社がフェーズIIIを進め、2006年に米FDA申請を目指す「シタグリプチン」(MK-0431)も経口投与可能なDPP-IV阻害剤。日本では万有製薬がフェーズIIまで進めていたが、小野薬品がメルク社に自社品を導出する代わりに万有製薬と共同開発し販売する権利を2004年11月に取得した。

シタグリプチンは、単回投与した試験成績しか報告されていないが、運動療法施行中の2型糖尿病患者56例に投与することで、糖負荷後の患者の血糖値の上昇をプラセボと比較して抑制し、インスリン濃度を上昇させた。また、活性型GLP-1は2倍に増加した(糖尿病学会 (40回)Abst794(2004.6))。

日本企業では他に、エーザイ (E3024)、田辺製薬 (TA-6666)、大正製薬 (TS-021)、三和化学 (SK-

協和発酵が合成した「K579」は基礎研究の愛蔵だが、作用時間が長く、動物モデルで低血糖症状を引き起こすことなく血糖をコントロールできた (Eur J Pharmacol 4863335-542(2004.223))。

グリナゾン系のアクトスとα-GIの「ベダスソ」(ボグリボース)で世界的な糖尿病治療薬メーカーに飛躍した武田薬品は、キッセイ薬品の短時間作用超短効性インスリン分泌促進剤「グルファスト」の共同販促を2004年5月から開始し、PPARα agonistも自社開発するなど、次世代にも積極的に乗り出している。2005年2月には、DPP-Ⅳ阻害剤開発に力をつけた米ベンチャーのシリックス社(現・武田サントアエジ)を買収した。

シリックス社はDPP社と共同でDPP-IV阻害剤の製薬を開発し、1つはフエーズIを完て、もう一つはフエーズIを終えフエーズIIに入るところ。武田薬品は、シリックス社を通じてFDAに治験申請を行っている臨床段階を引き上げる。これらとは別に、武田薬品はDPP-IV阻害剤を独自に開発し、動物実験を行っているが、フエーズI入りは明らかにしていない。3つのDPP-IV阻害剤を持つことで、開発中止のリスクを最小限に抑えることができる（化学工業日報 2005.214）。

海外では、米ゼラテンド社がGLP-1アナログ「ZP-10」のフェーズⅠ/Ⅱを進め、米コングエクト社は反対向持続性するGLP-1アナログ「CJC1131」(皮下注)のフェーズⅡを進めている。独プロハイオドラッグ社の「P33.0」は経口投与可能なDTP-Ⅳ阻害剤で糖尿病病患者に対し、血糖値がコントロールされている場合(HbA1c値が6%以下)では食後血糖を低下させないが、HbA1c値が6%を超えてコントロール状態が悪化した場合に用量依存的に食後の高血糖を抑え、安全性も確認できた(米糖尿病学会(64回)S33-P(2004.6))。

田辺製薬とキッセンイ薬品が目指す次世代腔口血漿降下剤は、 Na^+ とグルコース共輸送担体 (SGLT) を阻害することで過剰の糖を体外に排出することで高血糖状態を是正するもの。そのメカニズムから、血糖値が正常にまで低下した時はグルコースをそれ以上に排泄しないので低血糖の副作用を回避できる。SGLT阻害剤は胃分泌液中で濾過されたグルコースが近位屋細管上皮細胞のSGLTによって再吸収するのを阻害する (図81-5)。

(図81-5)

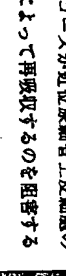


図81-5 SGLT阻害剤の作用メカニズム

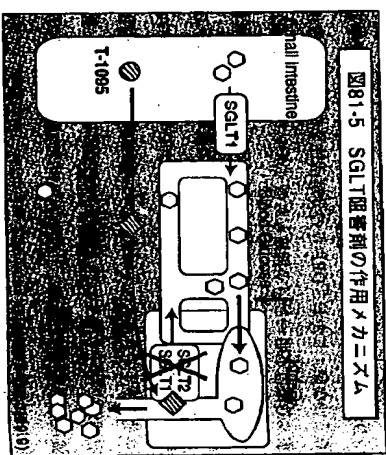


図81-5 SGLT阻害剤の作用メカニズム

血中のグルコースは腎糸球体で濾過されるが、濾液（原尿）中に移行したグルコースは近位尿管管で再吸収され循環血中に戻るしくみになっている。正常血糖時にはこうして100%が再吸収され無駄なく活用されるが、過剰のカロリーが体内にある時にはこの濃度が

嫌われない方が生体には好ましいとも考えられる。このような考えに基づいて生体内で過剰となつてい
るグルコースの再吸収を抑え体外に排泄しようとするのがSGLT阻害剤の狙いという。

世界でも初めて実用可能なSGT阻害剤を開発した田辺製薬は、天然物質である「フロリシン」をプロトタイブ（原型）にして、ハイドロキシアパルピテンを向上させたプロドラッグタイブの「T-1095」を開発した。同社の辻原健二氏は、「食事療法や運動療法は生体にとってエネルギー量を減少させるが、現在使われている血糖改善剤は全てエネルギーを体内に貯蔵する方向に働いているため体重増加が副作用として現われる。SGT阻害剤は腸管の過剰なグルコースを体外に排出するという食事療法や運動療法の延長にある新しいタイブ」と説明している（Chem Pharm Bull 46(12):23(2001.3)）。

キッセイ薬品の「KGT」もプロポラックタイズで、T₁₀₅₅と比較して腎臓のSGLT2に対する選択性が高いのが特徴となっている（日本糖尿病学会（44回）J149（2001.4））。キッセイ薬品は、2002年にGSKが日本やアジア以外の全世界の開発販売権を供与しており、欧米のデータを活用して日本で開発する予定。脂質代謝異常、糖尿病、肥満をターゲットに研究開発を進めている同社期待の次世代降血糖剤となっている。

キッセイ薬品は、選択的β₂アゴニストの「KTO-7924」も臨床候補にしている。良好な経口吸収性を有し、足動高脂血症動物モデルに対し、内臓脂肪のアドレナリンβ₃受容体を特異的に増加させ、高インスリン血症、高脂血症を改善した（日本肥満学会（25th）10/2004.9）。

杏林製薬が β_2 受容体 α オニストとして日米でフェーズIIと先行した[15,5964]は、日清7アルブが合成した1,4-ペンゾオキシベンゾ誘導体で、ヒト β_2/β_1 受容体 α オニスト活性比は200倍以上と乖離していることから臨床への影響の少ない経口血漿降下剤・肥満治療剤となる(※化学会(220回)MED3303(2000.8))。

三共の「CS917」は、肝臓の癌新生を調整する遺伝性酵素（FDBase）を阻害するものとしては世界で初めて。米バイオベンチャーのメタベイシス社との共同研究で見ていたし、2004年末頃から米で後期フェーズⅡを開始した。しかし、この後期フェーズⅡではメトホルミンとの併用で乳癌「シド」の副作用が頻に発生した。このため、2005年3月に後期フェーズⅡの3試験を中断した。その後、副作用は高用量のCS917の併用であったことから、2005年7月に再開した。これらとは別のSU剤との併用試験は後期フェーズⅡを終了した。

糖尿病の糖新生を改善する場合、①生体の糖利用を促進する、②生体からの糖消費を促す、③肝臓における糖産生を抑制する—という3つの形式が考えられる。肝臓における糖新生には糖新生に関わっているが、FBPase阻害剤は、FBPaseを阻害することで肝臓における糖産生を抑制し、結果として糖新生を改善すると想定される。三共はFBPase阻害剤はメトホルミンのような乳酸アシドーシスの副作用がなく、下痢などの消化器症状を起こさないとしている（国際公開（WO）2004/009118）。

治療薬年報

ai Report 1998	(1998年6月1日発行)	第1版第1刷
ai Report 2000	(2000年12月1日発行)	第1版第2刷
	(2001年3月1日発行)	第1版第1刷
ai Report 2002	(2002年12月25日発行)	第1版第2刷
	(2003年6月1日発行)	第1版第1刷
ai Report 2004	(2005年10月1日発行)	第1版第1刷

しての意義を増す可能性があることより市場開拓品と位置付け、長期的構えで市場形成に努める。1999年9月から並行販売しており、今のところ両社で3〜4億円規模だが、両社で50億円を目指す。

米では、1997年12月にアルプネックスを開発したMBI社がオプナゾンを発売したが、日本には導入されていない。しかし、最近になり注目を集めている「ソナゾイド」(英GEヘルスケア社)については、第一製薬が評価の権利を取得し「DD-723」の治験名で開発、2004年5月に申請した。2006年度の発売予定で大型化を見込んでいる。同剤は、血管の造影剤として強力であり、超音波を照射しなければ1時間以上血管内を循環し、また、2時間後では肝臓に集積した信号を発するという血管造影と、網内系造影とを兼ねた造影剤としてユニークなものである(日本臨床56(4)848-853(98.4))。

ブラッコ・エーザイが2005年度にも申請を予定している「E7210」は、「ソノビュー」といわれるSF6(六フッ化硫黄ガス)を用いた低音圧系超音波造影剤で、伊ブラッコ社が開発した。微小気泡(マイクログバルブ)が超音波を反射することを利用したもので、マイクログバルブが消失しにくく解明度の高い安定した造影が期待できる。

共成製薬が米イムコア(IMCOR)社から導入した低音圧系超音波造影剤AF01501は、米では2002年5月に「Imagent」の商品名で心腔内造影、心内臓辺縁描出で承認取得した。難溶性のガスであるパーフルオロヘキサノンと合成リン脂質であるジミリスチルホスファチジルコリン(DMPC)を主成分とする。DMPCがパーフルオロヘキサノンのシェルのことにより、血流中での高安定性を実現し、低音圧での長期間観察を可能とした。常温保存が可能で、付属の注射用水を加え、手で振とうすることで、微小気泡(マイクログバルブ)注射液を調製することができる。さらに、マイクログバルブは中性であり、補体に対する影響が小さいため、副作用の少ないことが期待できる。

ai Report 2004—治療薬年報

発行 ● 2005年10月1日 第1版第1刷
定価 ● 92,400円(本体88,000円+消費税)
発行所 ● 株式会社 シーマ・サイエンスジャーナル
〒107-0062 東京都港区南青山5-4-27

シファラルタ生命南青山ビル

電話 (03)3797-0271 FAX (03)3797-0283

表紙デザイン ● OPR

印刷 ● 株式会社 ニッケイ印刷

本書の一部または全部について個人で使用することは、著作権上、発行所の承諾を得ずに複製、転写、複製することは禁じられております。

Document C: Attached papers of the Japanese Pharmacopoeia voglibose tablet, BASEN® Tablets 0.2 & 0.3, from Takeda Pharmaceuticals Co., Ltd. revised on May 2006.

Page 2, the right column, lines 20-23 from the bottom:

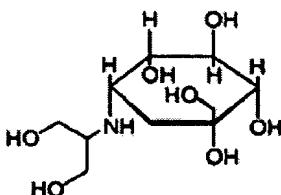
"Pharmaceutical and Pharmacological Effects"

This drug improves hyperglycemia after a meal by inhibiting a disaccharide-hydrolase (α -glucosidase) capable of decomposing a disaccharide into a monosaccharide in the intestinal canal and by deteriorating digestion and absorption of a sugar.

Page 3, lines 1-12:

"Physicochemical Information Regarding Effective Component"

Chemical formula:



General name: Voglibose [JAN]

Chemical name: 3,4-Dideoxy-4-[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)-ethylamino]-2-C-(hydroxymethyl)-D-epi-inositol

Molecular formula: $C_{10}H_{21}NO_7$

Molecular weight: 267.28

Melting point: 163-168°C

Compound properties: Voglibose is a white crystal or crystalline powder. It is soluble in water quite easily and in acetic acid (100) easily. Voglibose is slightly soluble in methanol and quite slightly soluble in ethanol (99.5). It dissolves in a 0.1 mol/L hydrochloric acid reagent.

添付文書情報

** 2006年12月改訂(第11版)
* 2006年 5月改訂

貯 法：室温保存
使用期限：外箱に表示の使用
期限内に使用すること。
(使用期限内であっても開封後は
なるべく速やかに使用すること。)

糖尿病食後過血糖改善剤

指定医薬品 処方せん医薬品^{（注1）}

** 日本薬局方 ポグリボース錠

ベイスン錠 0.2
ベイスン錠 0.3
「タケダ」

BASEN Tablets 0.2 & 0.3

日本標準商品分類番号 873969







	承認番号	薬価収載	販売開始
0.2	(6AM)1120	1994年 8月	1994年 9月
0.3	(6AM)1121	1994年 8月	1994年 9月
再審査結果			2004年 9月

【禁 忌】(次の患者には投与しないこと)

- (1)重症ケトosis、糖尿病性昏睡又は前昏睡の患者
[輸液及びインスリンによる速やかな高血糖の是正が必須となるので本剤の投与は適さない。]
- (2)重症感染症、手術前後、重篤な外傷のある患者
[インスリン注射による血糖管理が望まれるので本剤の投与は適さない。]
- (3)本剤の成分に対する過敏症の既往歴のある患者

**【組成・性状】

本剤は日本薬局方ポグリボース錠である。

	ベイスン錠0.2			ベイスン錠0.3		
1錠中の有効成分	ポグリボース 0.2mg			ポグリボース 0.3mg		
剤 形	割線入りの素錠			素錠		
錠剤の色	白色～帯黄白色					
識別コード	◎ 351			◎ 352		
形 状	上面	下面	側面	上面	下面	側面
						
直径(mm)	7.1			8.1		
厚さ(mm)	2.6			3.1		

添加物：トウモロコシアンブ、ヒドロキシプロピルセルロース、ステアリン酸マグネシウム、乳糖水和物

【効能・効果】

糖尿病の食後過血糖の改善(ただし、食事療法・運動療法を行っている患者で十分な効果が得られない場合、又は食事療法・運動療法に加えて経口血糖降下剤若しくはインスリン製剤を使用している患者で十分な効果が得られない場合に限り)

【用法・用量】

通常、成人にはポグリボースとして1回0.2mgを1日3回毎食直前に経口投与する。なお、効果不十分な場合には、経過を十分に観察しながら1回量を0.3mgまで増量することができる。

【使用上の注意】

1. 慎重投与(次の患者には慎重に投与すること)

- (1)他の糖尿病用薬を投与中の患者
[低血糖が起こることがある。] (「重大な副作用」の項参照)
- (2)開腹手術の既往又は腸閉塞の既往のある患者
[腸内ガス等の増加により腸閉塞様の症状が発現しやすい。]
- (3)消化・吸収障害を伴った慢性腸疾患の患者
[本剤の作用により病態が悪化することがある。]
- (4)ロエムヘルド症候群、重度のヘルニア、大腸の狭窄・潰瘍等の患者 [腸内ガス等の増加により症状が悪化することがある。]
- (5)重篤な肝障害のある患者 [代謝状態が変化することがあるため血糖管理状況が大きく変化のおそれがある。また、重篤な肝硬変例で、高アンモニア血症が増悪し意識障害を伴うことがある。]
- (6)重篤な腎障害のある患者 [代謝状態が変化することがあるため血糖管理状況が大きく変化のおそれがある。]
- (7)高齢者 (「高齢者への投与」の項参照)

2. 重要な基本的注意

- (1)糖尿病の診断が確立した患者に対してのみ適用を考慮すること。糖尿病以外にも耐糖能異常・尿糖陽性等、糖尿病類似の症状(腎性糖尿、老人性糖代謝異常、甲状腺機能異常等)を有する疾患があることに留意すること。
- (2)糖尿病治療の基本である食事療法・運動療法のみを行っている患者では、投与の際の食後血糖2時間値は200mg/dL以上を示す場合に限る。
- (3)食事療法、運動療法に加えて経口血糖降下剤又はインスリン製剤を使用している患者では、投与の際の空腹時血糖値は140mg/dL以上を目安とする。
- (4)本剤投与中は、血糖を定期的に検査するとともに、経過を十分に観察し、常に投与継続の必要性について注意を払うこと。本剤を2～3カ月投与しても食後血糖に対する効果が不十分な場合(静脈血漿で食後血糖2時間値が200mg/dL以下にコントロールできないなど)には、より適切と考えられる治療への変更を考慮すること。
なお、食後血糖の十分なコントロール(静脈血漿で食後血糖2時間値が160mg/dL以下)が得られ、食事療法・運動療法又はこれらに加えて経口血糖降下剤若しくはインスリンを使用するのみで十分と判断される場合には、本剤の投与を中止して経過観察を行うこと。
- (5)本剤の使用にあたっては、患者に対し低血糖症状及びその対処方法について十分説明すること。(「重大な副作用」の項参照)

3. 相互作用

併用注意(併用に注意すること)

薬剤名等	臨床症状・措置方法・機序等
糖尿病用薬 スルホニルアミド系及びスルホニルウレア系薬剤、 ビグアナイド系薬剤、 インスリン製剤、 インスリン抵抗性改善剤	インスリン及びスルホニルウレア系薬剤と併用した際に、低血糖発現の報告があるので、左記薬剤との併用時には、低血糖発現の可能性を考慮し、低用量から投与を開始するなど慎重に投与すること。
糖尿病用薬及びその血糖降下作用を増強又は減弱する薬剤を併用している場合 ○糖尿病用薬の血糖降下作用を増強する薬剤 β-遮断剤、サリチル酸剤、モノアミン酸化酵素阻害剤、フィブラート系の高脂血症治療剤、ワルファリン 等 ○糖尿病用薬の血糖降下作用を減弱する薬剤 エビネフリン、副腎皮質ホルモン、甲状腺ホルモン 等	左記の併用に加え更に本剤を併用する場合には、糖尿病用薬の使用上の注意に記載の相互作用に留意するとともに、本剤の糖質吸収遅延作用が加わることによる影響に十分注意すること。

注1) 処方せん医薬品：注意一医師等の処方せんにより使用すること

4. 副作用

承認時までの調査では1回0.6mg又は0.9mgを投与した965例中154例(16.0%)に、市販後の使用成績調査(再審査終了時点)では4,446例中460例(10.3%)に臨床検査値の異常を含む副作用が認められている。

以下の副作用は上記の調査あるいは自発報告等で認められたものである。

(1) 重大な副作用

- 1) 他の糖尿病用薬との併用で低血糖(0.1~5%未満)があらわれることがある。また、他の糖尿病用薬を併用しない場合でも低血糖(0.1%未満)が報告されている。本剤は二糖類の消化・吸収を遅延するので、低血糖症状が認められた場合にはショ糖ではなくブドウ糖を投与するなど適切な処置を行うこと。
- 2) 腹部膨満、放屁増加(0.1~5%未満)等があらわれ、腸内ガス等の増加により、腸閉塞様の症状(0.1%未満)があらわれることがあるので、観察を十分に行い、症状があらわれた場合には投与を中止するなど適切な処置を行うこと。
- 3) 劇症肝炎、AST(GOT)、ALT(GPT)の上昇等を伴う重篤な肝機能障害、黄疸(いずれも0.1%未満)があらわれることがあるので、観察を十分に行い、異常が認められた場合には投与を中止し、適切な処置を行うこと。
- 4) 重篤な肝硬変例に投与した場合、便秘等を契機として高アンモニア血症が増悪し、意識障害(頻度不明)を伴うことがあるので、排便状況等を十分に観察し、異常が認められた場合には直ちに投与を中止するなど適切な処置を行うこと。

(2) その他の副作用

	0.1~5%未満	0.1%未満	頻度不明
1) 消化器	下痢、軟便、腹痛、腹痛、便秘、食欲不振、悪心、嘔吐、胸やけ	口内炎、口渇、味覚異常、腸管囊胞様気腫症	
2) 過敏症 ^(注1)		発疹、痒疹、光線過敏症	
3) 肝 臓	AST(GOT)、ALT(GPT)、LDH、 γ -GTP、AL-Pの上昇		
4) 精神神経系		頭痛、めまい、ふらつき、眩暈	
* 5) 血 液	貧血	血小板減少	顆粒球減少
6) その他	しびれ、顔面等の浮腫、眼のかすみ、ほてり、倦怠感、脱力感、高カリウム血症、血清アミラーゼ上昇、HDLコレステロール低下、発汗、脱毛		

注2) このような場合には投与を中止すること。

5. 高齢者への投与

一般に高齢者では生理機能が低下しているので、低用量(例えば1回量0.1mg)から投与を開始するとともに、血糖値及び消化器症状の発現に留意するなど、経過を十分に観察しながら慎重に投与すること。

6. 妊婦、産婦、授乳婦等への投与

- (1) 妊婦又は妊娠している可能性のある婦人には治療上の有益性が危険性を上まわると判断される場合にのみ投与すること。[妊娠中の投与に関する安全性は確立していない。]
- (2) 授乳中の婦人への投与は避けることが望ましいが、やむを得ず投与する場合は、授乳を避けさせること。

[動物試験(ラット)で、母動物の糖質吸収の抑制に起因する乳汁産生の抑制によると考えられる出生児の体重の増加抑制が認められている。]¹²⁻¹⁴⁾

7. 小児等への投与

小児に対する安全性は確立していない(使用経験がない)。

8. 適用上の注意

薬剤交付時：PTP包装の薬剤はPTPシートから取り出して服用するよう指導すること。[PTPシートの誤飲により、硬い鋭角部が食道粘膜へ刺入し、更には穿孔をおこして縦隔洞炎等の重篤な合併症を併発することが報告されている。]

【薬物動態】

- (1) 健康成人男子(6名)に1回0.2mg 1日3回、7日間反復投与した場合、血漿中及び尿中にボグリボースは検出されない。³⁾

(参 考) 健康成人男子(10名)に2mgを単回投与した場合、血漿中及び尿中にボグリボースは検出されない。

- (2) ラットに¹⁴Cボグリボース1mg/kg単回投与した試験で胎児及び乳汁中への移行が認められており、尿、糞への排泄率はそれぞれ約5%、98%である。⁴⁾

【臨床成績】⁵⁻²⁰⁾

インスリン非依存型糖尿病、インスリン依存型糖尿病の各患者を対象に、1日0.6又は0.9mgを、投与した二重盲検比較対照試験を含む各種臨床試験において、最終血糖総合改善度が評価された877例の糖尿病の病型別改善率は表のとおりである。

糖 尿 病 の 病 型	例数	中等度改善以上	軽度改善以上
インスリン非依存型糖尿病	812	371 (45.7)	613 (75.5)
インスリン依存型糖尿病	65	31 (47.7)	47 (72.3)
計	877	402 (45.8)	660 (75.3)

数字は例数、()内は累積パーセント

中等度改善以上：「著明改善」+「中等度改善」

上記のインスリン非依存型糖尿病患者を対象とした二重盲検比較対照試験の結果、本剤の有用性が認められている。⁵⁻⁶⁾

また、食事療法のみでの症例のみならず、インスリン製剤使用中⁷⁻¹⁰⁾あるいは経口血糖降下剤使用中¹¹⁻¹⁵⁾の患者においても食後過血糖の改善を初めとする有用性が認められている。さらに、長期投与試験(平均投与期間約7カ月)では効果の持続が確認され、安定した血糖コントロールが得られている。¹⁶⁻²⁰⁾

なお、臨床薬理試験結果より、代表的副作用である放屁増加、腹部膨満、下痢及び軟便等は、薬理作用に起因する未吸収糖質の分解・発酵に基づくものであると考えられる。

【薬効薬理】²¹⁻²⁵⁾

本剤は、腸管において二糖類から単糖への分解を担う二糖類水解酵素(α -グルコシダーゼ)を阻害し、糖質の消化・吸収を遅延させることにより食後の過血糖を改善する。

1. 作用機序²¹⁾

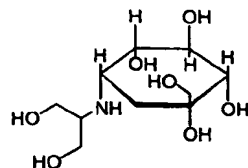
- (1) ブタ小腸由来マルターゼとスクラーゼに対してアカルボースよりそれぞれ約20倍及び30倍強い阻害作用を示し、ラット小腸由来マルターゼ及びスクラーゼ阻害活性はそれぞれアカルボースの約270倍及び190倍である(in vitro)。一方ブタ及びラット膵 α -アミラーゼに対する阻害作用はアカルボースの約1/3000であり、 β -グルコシダーゼに対しては阻害活性を示さない(in vitro)。
- (2) ラット小腸由来のスクラーゼ-イソマルターゼの複合体の二糖類水解酵素に対する阻害様式は競合拮抗的である(in vitro)。

2. 血糖上昇抑制作用

- (1) 正常ラットに経口投与した場合、でん粉、マルトース及びスクロース負荷後の血糖上昇を抑制するが、グルコース、フルクトース及びラクトース負荷後の血糖上昇に対しては無効である(in vivo)。²²⁾
- (2) 健康成人にスクロース負荷を行い呼吸気素ガスを測定したところ、本剤の臨床用量における血糖上昇抑制作用は二糖類の部分的な分解抑制に基づく糖質の軽度な吸収阻害と、その結果としての吸収遅延によるものと推定される。²³⁾

****[有効成分に関する理化学的知見]**

化学構造式：



一般名：ボグリボース (Voglibose) [JAN]

化学名：3,4-Dideoxy-4-[2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)-ethylamino]-2-C-(hydroxymethyl)-n-epi-inositol

分子式： $C_{10}H_{17}NO_7$

分子量：267.28

融点：163~168℃

性状：ボグリボースは白色の結晶又は結晶性の粉末である。
水に極めて溶けやすく、酢酸(100)に溶けやすく、メタノールに溶けにくく、エタノール(99.5)に極めて溶けにくい。0.1mol/L塩酸試薬に溶ける。

【包装】

錠0.2：100錠(10錠×10)、500錠(バラ、10錠×50)、
1,000錠(10錠×100)、2,100錠(21錠×100)
錠0.3：100錠(10錠×10)、500錠(バラ、10錠×50)、
1,000錠(10錠×100)、2,100錠(21錠×100)

【主要文献】

- 1) Morseth, S. L. et al. : 薬理と治療, **19** : 4325, 1991.
- 2) Morseth, S. L. et al. : *ibid.*, **19** : 4375, 1991.
- 3) 平賀興吾 : 基礎と臨床, **26** : 283, 1992.
- 4) 前芝良宏 他 : 薬理と治療, **19** : 3639, 1991.
- 5) 後藤由夫 他 : 医学のあゆみ, **160** : 943, 1992.
- 6) 神谷文雅 他 : 臨床成人病, **22** : 573, 1992.
- 7) 池田義雄 他 : 新薬と臨牀, **41** : 20, 1992.
- 8) 中埜幸治 他 : 診療と新薬, **28** : 2315, 1991.
- 9) 森島豊彦 他 : 臨牀と研究, **69** : 3997, 1992.
- 10) 河盛隆造 他 : 糖尿病, **35** : 633, 1992.
- 11) 柴田 昭 他 : Progress in Medicine, **12** : 239, 1992.
- 12) 田港朝彦 他 : 新薬と臨牀, **41** : 193, 1992.
- 13) 西澤良記 他 : 医学と薬学, **27** : 123, 1992.
- 14) 松岡 瑛 他 : 診療と新薬, **29** : 255, 1992.
- 15) 加来浩平 他 : 薬理と治療, **20** : 887, 1992.
- 16) 三村和郎 他 : 臨牀と研究, **69** : 919, 1992.
- 17) 三村和郎 他 : *ibid.*, **69** : 235, 1992.
- 18) 中村光男 他 : 新薬と臨牀, **41** : 2, 1992.
- 19) 小泉順二 他 : 診療と新薬, **29** : 241, 1992.
- 20) 梅田文夫 他 : 臨牀と研究, **69** : 1309, 1992.
- 21) 小高裕之 他 : 日本栄養・食糧学会誌, **45** : 27, 1992.
- 22) 後藤由夫 他 : 臨床成人病, **22** : 451, 1992.
- 23) 池田 衡 他 : 薬理と治療, **19** : 4105, 1991.
- 24) Odaka, H. et al. : J. Nutr. Sci. Vitaminol., **38** : 27, 1992.
- 25) 池田 衡 他 : 薬理と治療, **19** : 4451, 1991.
- 26) 小高裕之 他 : 日本栄養・食糧学会誌, **45** : 33, 1992.
- 27) 高見健治 他 : 薬理と治療, **19** : 4457, 1991.
- 28) 小高裕之 他 : *ibid.*, **19** : 4829, 1991.

【文献請求先】

武田薬品工業株式会社
医薬開発本部 日本開発センター 医薬情報部
〒540-8645 大阪市中央区道修町四丁目1番1号

製造販売元

武田薬品工業株式会社

〒540-8645 大阪市中央区道修町四丁目1番1号

D4

Document D: "Investigation of the influence of AO-128 (disaccharide-hydrolase inhibitor) on sucrose absorption", Clinical Diseases of Adult People, Vol.22, No.3, 1992, page 127-134

Page 127, the left right column lines 2-3 and the right column line 1:

AO-128 is a disaccharide-hydrolase (α -glucosidase) inhibitor which was developed by Takeda Pharmaceuticals Co., Ltd. (Fig. 1).

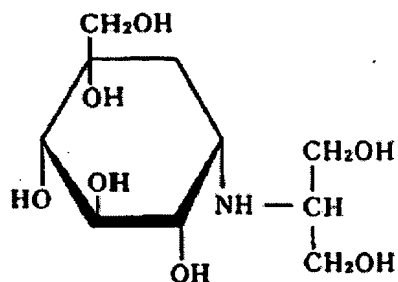


Fig. 1 Structural formula of AO-128.

Page 132, the right column, lines 1-4:

AO-128 is a disaccharide-hydrolase inhibitor and orally administrated to suppress a drastic increase of blood glucose after a meal by inhibiting α -glucosidase inhibitor existing in the small intestine and suppressing generation of glucose derived from sugars in the food.

Page 133, the left column, lines 8-15:

That is, suppression in increase of blood glucose was evidently recognized by administration of this drug, even though it can be considered that the amounts of the sucrose absorptions do not make much difference between the administration of the placebo and the administration of this drug. Thus, regarding the action mechanism of the suppression in blood sugar-increase by this drug in a dose of 0.2 mg, it can be considered that the absorption of a sugar is inhibited but the degree of the inhibition is quite low. It is presumed that the absorption of a sugar is slightly inhibited, as a result, the absorption is retarded, rather than inhibition of the absorption itself.

AO-128 (二糖類水解酵素阻害薬) の sucrose 吸収に及ぼす影響の検討

後藤 由夫^{*,1)} 山田 憲一^{1,2)} 大山 武¹⁾

はじめに

AO-128 は武田薬品工業株式会社で開発された二糖類水解酵素 (α -glucosidase) 阻害薬である (図1)。

本薬は経口投与により、糖質の消化の最終段階で膜消化と称される二糖類から単糖類への分解を司る酵素を阻害することにより、食物中の糖質由来の glucose 生成を抑制して、食後の急峻な血糖上昇を抑える¹⁾。このことから、本薬は糖質代謝疾患である糖尿病への適応が期待され、糖尿病患者を対象にして著者らが実施した本薬の第二相試験²⁾においても、血糖上昇の明らかな抑制が認められている。

一方、難消化性の糖質などが吸収されないまま大腸に到達すると腸内細菌叢による分解を受けて水素ガスが産生され、生成した水素ガスの約10%が呼気中へ排泄されることが報告されている^{3,4)}。

lactulose (1-4- β -galactosido-fructose) は人工の二糖類で、ヒト小腸の二糖類水解酵素では分解されず、ほとんど吸収されないことが明らかになっており⁵⁾、ヒトに投与すると呼気中へ水素ガスが排泄される^{6,7)}。一方、sucrose (1-2- α -glucosido-fructose) はヒト小腸の二糖類水解酵素により分解され、ほぼ完全に吸収される二糖類である^{8,9)}。

これらのことから、lactulose を投与した場合を基準として sucrose 摂取と同時に二糖類水解酵素阻害薬を投与した場合の未吸収糖質量と呼気中水素ガス排泄量より推定する試みがなされている^{6,7)}。

そこでわれわれは、Caspary の方法⁶⁾に従い AO-128 投与による未吸収糖質量を推定して、本薬の血糖上昇抑

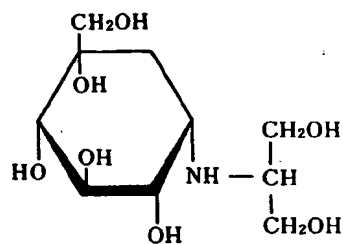


図1 AO-128 の構造式

制の作用機序を明らかにすべく本研究を実施した。

なお、本研究は1990年6月から12月にかけて実施した。

I. 試験方法

1. 対象

日本人成人男子志願者の中から、次の条件をすべて満足するものを12名選んで対象とした。

①年齢が原則として20~59歳のもの

②薬剤アレルギーの既往歴のないもの

③消化器疾患の既往歴のないもの

④lactulose 負荷 (lactulose 13g を含む水 200 ml の経口摂取) 後、呼気中へ水素ガスが排泄されていることが確認されたもの

⑤問診、理学的検査、心電図、一般血液検査、血液化学検査、グリコヘモグロビン、尿検査などの事前検診 (検査項目の詳細は表1参照) を実施し、治験担当医師が被験者として適当であることを確認したもの

⑥本試験の実施に先立ち、試験の目的、内容、試験薬の効果および安全性などを十分に説明した上で文書によ

* 治験総括医師

1) 東北厚生年金病院内科

2) 現：山田憲一内科医院

表 1 検査・観察項目

理 学 的 検 査	視診, 聴診, 触診, 打診, 血圧, 脈拍数
心 電 図	安静時12誘導
一 般 血 液 検 査	赤血球数, ヘモグロビン量, ヘマトクリット値, 血小板数, 白血球数
血 液 化 学 検 査	血糖, 総蛋白, アルブミン, A/G, GOT, GPT, γ -GTP, Al-P, LDH, 総ビリルビン, アミラーゼ, クレアチニン, BUN, Na, K, Cl, Ca, P
グリコヘモグロビン	ヘモグロビン A _{1c}
尿 検 査	糖, 蛋白, ウロビリノーゲン, ケトン体, 沈渣

表 2 投与量, 投与方法および投与期間

事前検診	投与群	第4~1日前 (4日間)	第 1 日	第4~7日 (4日間)	第 8 日
lactulose 負荷 ¹⁾	AP 群	●朝食直前 ●昼食直前 ●夕食直前	●朝食絶食下 (sucrose 負荷 ²⁾ 10分前)		○朝食絶食下 (sucrose 負荷 ²⁾ 10分前)
	PA 群		○朝食絶食下 (sucrose 負荷 ²⁾ 10分前)	●朝食直前 ●昼食直前 ●夕食直前	●朝食絶食下 (sucrose 負荷 ²⁾ 10分前)

1) lactulose 負荷: lactulose 13 g を含む水 200 ml を経口摂取

2) sucrose 負荷: sucrose 100 g を含む水 200 ml を経口摂取

●AO-128 0.2 mg 投与
○プラセボ投与

る同意が得られたもの

2. 試験薬剤

1錠中に AO-128 として 0.2 mg を含有する錠剤およびプラセボ錠で, 相互に識別不能なものを用いた。

なお, 試験薬剤は武田薬品工業株式会社から提供を受けた。

3. 試験デザイン

プラセボを対照とした, 被験者に対するシングルブラインド, クロスオーバー試験とした。

4. 投与量, 投与方法および投与期間

投与量, 投与方法および投与期間は表2に示したとおりで, 本薬先行投与群 (AP 群) およびプラセボ先行投与群 (PA 群) とともに, 7日間の間隔をおいて sucrose 負荷 (sucrose 100 g を含む水 200 ml の経口摂取) を2回行った。

いずれの群においても本薬は1回1錠, 1日3回毎食直前に, 4日間にわたり投与し, 5日目に施行した sucrose 負荷の10分前にさらに1錠を 50 ml の水とともに投与した。また, プラセボは単回投与とし, sucrose 負荷の10分前に1錠を 50 ml の水とともに投与した。

なお, sucrose 負荷は前夜から10時間以上絶食後の空

腹時に行った。

5. 被験者数および被験者の割り付け

被験者数は AP 群および PA 群各6名の計12名とし, AP 群または PA 群への割り付けはランダムに行った。

6. 検査, 観察方法

主な検査, 観察項目およびその時期を図2に示した。

1) 背 景

事前検診において, 被験者名 (イニシャル), 年齢, 身長, 体重を調査した。

2) 健康診断

事前検診において問診および理学的検査, 心電図, グリコヘモグロビンの検査, 測定を行った (項目の詳細は表1参照)。

3) lactulose 負荷

事前検診において, lactulose 13 g を含む水 200 ml を経口摂取させた。

4) sucrose 負荷

第1日および第8日に sucrose 100 g を含む水 200 ml を経口摂取させた。

5) 呼気水素ガス測定

lactulose または sucrose 負荷のいずれの場合も, 負荷

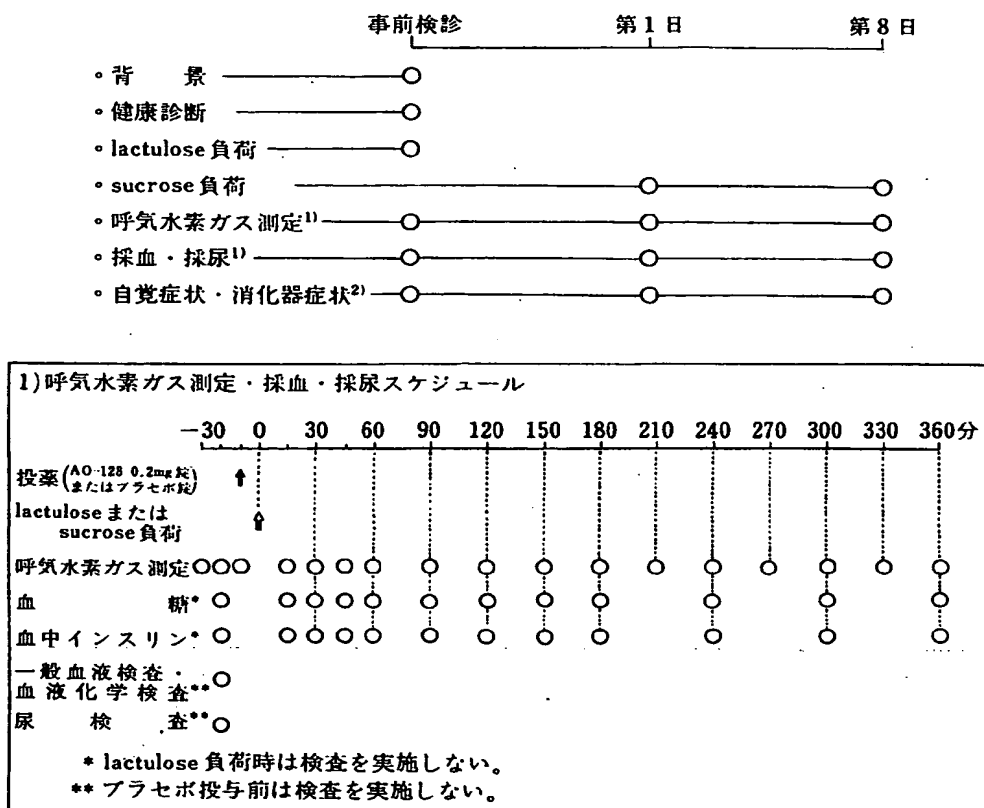


図 2 主な検査、観察項目および時期

前は30分前より10分ごとに3回測定した。負荷後は60分後までは15分ごとに、60分後から360分後までは30分ごとに行った。

測定は Microlyzer Model 12i® (QUINTRON 社製) ガスクロマトグラフィを用いて行った。

6) 血糖および血中インスリン

sucrose 負荷前および負荷後は60分後までは15分ごとに、60分後から180分後までは30分ごとに、さらに180分後から360分後までは60分ごとに計12回行った。

血糖は血漿を用いて電極法により、血中インスリンは血清を用いて RIA 法により測定した。

7) 臨床検査

事前検診および本薬最終投与の投与前に一般血液検査、血液化学検査および尿検査につき表1に示す項目の検査、測定を行った。

各検査値については正常または異常を判定し、かつ事前検診と比較して本薬投与終了時に異常変動（悪化）の有無を判定し「有」の場合には追跡調査を行うとともに薬剤との関連性を「明らかに関連あり・多分関連あり・関連ないともいえない・関連不明（判定保留）・関連な

し」の5分類で判定することとした。

8) 自覚症状、消化器症状

試験期間中の自覚症状、特に lactulose あるいは sucrose 負荷後の消化器症状（下痢、軟便、腹痛、腹部膨満感、腹鳴、放屁の増加）について調査し、症状がみられた場合はその程度（軽度、中等度、高度）、発現時間、処置および転帰（消失、軽快、不変、悪化）と薬剤との関連性を臨床検査と同じ5分類で判定することとした。

7. 比較・検討項目

1) 呼気水素ガス濃度曲線下面積

呼気水素ガス濃度は被験者ごとに、lactulose または sucrose 負荷前3回の測定時点における測定値の平均値をコントロールとし、コントロールからの変化量をもって各測定時点の値として扱った。

本薬投与下 sucrose 負荷後の呼気水素ガス濃度曲線下面積は、負荷した sucrose はすべて吸収されたと推定されるプラセボ投与下のそれとの差より算出した。すなわち、各被験者の測定時点ごとに本薬投与後の値（以下 A）とプラセボ投与後の値（以下 P）との差（A-P）を求め、A-P を用いて台形法により算出した〔以下 AUC

表 3 症例一覽

被験者 No.	イニ シャル	年 齢 (歳)	身 長 (cm)	体 重 (kg)	sucrose 吸収阻害量 (g)	最高血糖値 (mg/dl)		消化器症状		
						P	A	L	P	A
1	K. H.	18	172	51	0.1	118	92	腹 鳴	—	—
2	K. M.	20	165	76	8.2	143	131	—	—	—
3	S. H.	25	166	73	9.0	172	153	—	—	—
4	Y. Y.	20	169	63	6.1	128	114	—	—	—
5	M. H.	22	175	74	1.8	134	112	—	—	下 痢
6	S. I.	20	178	67	3.6	133	120	—	—	—
7	Y. I.	20	172	63	5.5	147	99	腹 痛	—	軟 便
8	R. A.	20	171	65	7.2	154	116	—	—	軟 便
9	K. W.	20	173	60	8.3	111	87	—	—	腹部膨満感
10	S. O.	20	163	57	7.7	126	95	—	—	—
11	M. M.	21	170	75	0	130	97	—	—	—
12	K. I.	20	171	55	2.2	145	106	—	—	—
平均値 ±標準偏差		20.5 ±1.7	170.4 ±4.2	64.9 ±8.3	5.0 ±3.3	136.8 ±16.6	110.2 ±18.7			

(注) P: プラセボ投与下 sucrose 100 g 負荷後
 A: AO-128 0.2 mg 投与下 sucrose 100 g 負荷後
 L: lactulose 13 g 負荷後
 —: 症状なし

(A-P)]。

同様に, lactulose 負荷後の呼気水素ガス濃度曲線下面積は, lactulose 負荷後の値 (以下 L) と P との差 (L-P) を用いて算出した [以下 AUC (L-P)]。

本薬投与による未吸収 sucrose 量 (吸収阻害量) は下式により算出した。

$$\text{吸収阻害量 (g)} = \text{lactulose 量 (g)} \times \frac{\text{AUC (A-P)}}{\text{AUC (L-P)}}$$

2) sucrose 負荷後の血糖と血中インスリン

本薬投与後の血糖および血糖曲線下面積ならびに血中インスリンおよび血中インスリン曲線下面積をプラセボ投与後のそれらと比較して, 本薬投与による sucrose 100 g 負荷に対する血糖および血中インスリンの反応の変化を検討した。

血糖および血中インスリン曲線下面積としては, sucrose 負荷後の値が負荷前値に復する時点までの, 負荷前値からの上昇量を用いて台形法により算出した (以下血糖上昇量曲線下面積および血中インスリン上昇量曲線下面積)。

II. 試験成績

12名の被験者の背景は表3に示したとおり, 平均年齢 20.5 ± 1.7 歳 (平均値 ± 標準偏差, 以下同様), 平均身長

170.4 ± 4.2 cm, 平均体重 64.9 ± 8.3 kg であった。

以下, 計量値は12例の平均値 ± 標準偏差で記載した。

1. 呼気水素ガス濃度曲線下面積

呼気水素ガス濃度の推移を図3に示した。lactulose 負荷日の負荷前値は 17.8 ± 8.5 ppm, sucrose 負荷日の負荷前値は本薬投与前 24.8 ± 15.9 ppm およびプラセボ投与前 21.8 ± 17.4 ppm とほとんど差はみられなかった。

呼気水素ガス濃度曲線は, 平均値でみると lactulose 13 g 負荷後, 本薬投与下 sucrose 100 g 負荷後, プラセボ投与下 sucrose 100 g 負荷後の順で高値に推移し, 本薬投与後の水素ガス排泄は lactulose 負荷後と比べて少なかった。

負荷 360 分 (6 時間) 後までの呼気水素ガス濃度曲線下面積は, 本薬投与下 sucrose 負荷後 [AUC (A-P)] の 93.4 ± 69.9 Δ ppm·hr に対し lactulose 負荷後 [AUC (L-P)] は 259.0 ± 130.1 Δ ppm·hr であった。被験者ごとに算出した未吸収の sucrose 量すなわち本薬投与により吸収を阻害された sucrose 量は表3に示したとおりで, その平均値は 5.0 ± 3.3 g であった。

2. 血糖および血中インスリン

1) 血 糖

本薬投与後またはプラセボ投与後の平均血糖推移を図

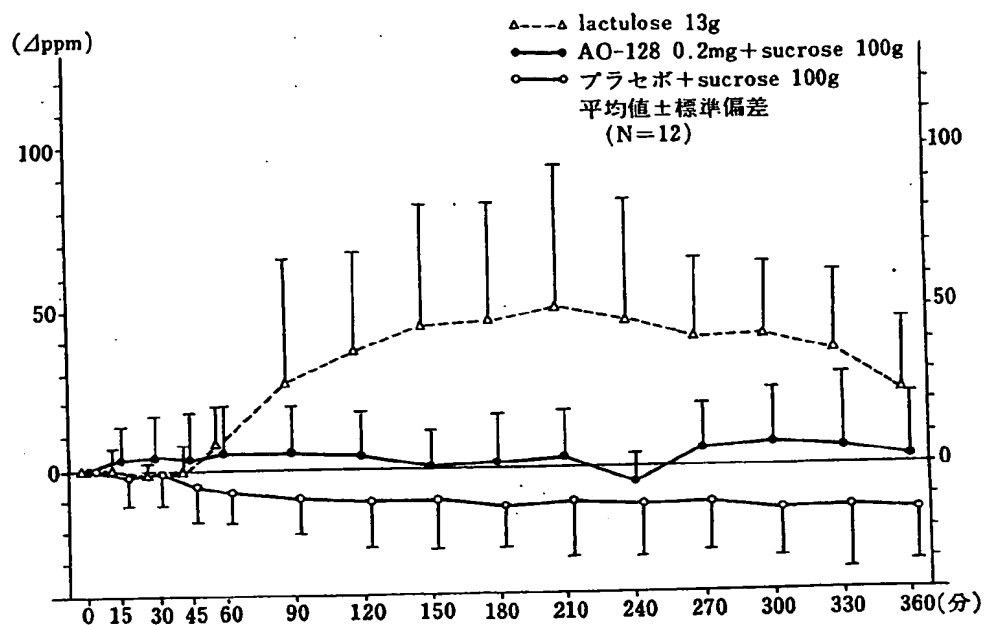


図3 呼気水素ガス濃度推移

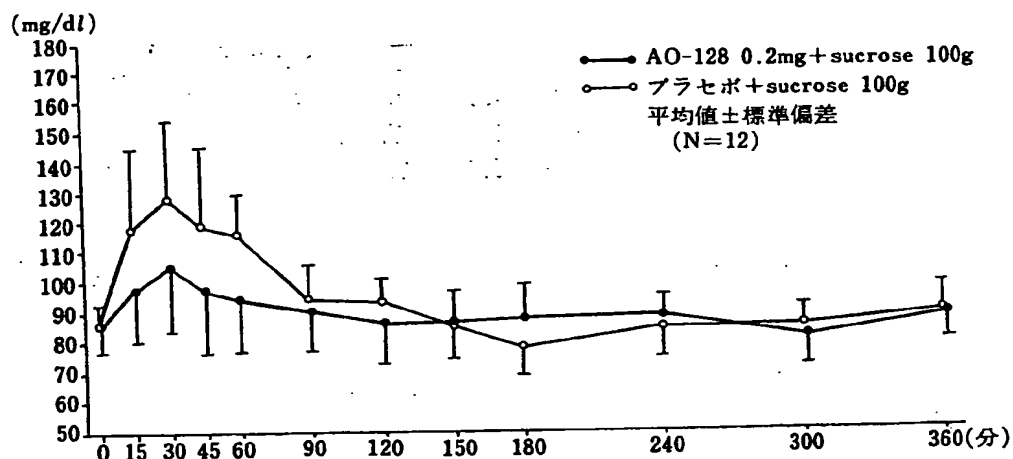


図4 血糖推移

4に示した。負荷前値は本薬投与前およびプラセボ投与前のいずれも 86 ± 7 mg/dl と同一の値を示した。

プラセボ投与後では、負荷30分後に最高値 (128 ± 26 mg/dl) に達し、180分後には最低値 (77 ± 9 mg/dl) をとり、この最低値は負荷前値よりさらに低値であった。

本薬投与後では、プラセボ投与後と同様に負荷30分後に最高値に達したものの、その値 (105 ± 21 mg/dl) はプラセボ投与の場合と比べて明らかに低値であった。また、負荷15分後、45分後および60分後においても本薬投与後の値はプラセボ投与後の値に比べて明らかに低値であったが、180分後においてはむしろ本薬投与後の値 (86 ± 11 mg/dl) の方がプラセボ投与後の値よりも高値を示

した。一方、最低値は300分後に 79 ± 7 mg/dl を示した。

また、被験者ごとに sucrose 負荷後の最高血糖値について、本薬投与後とプラセボ投与後とを比較した場合、表3に示したごとくすべての被験者において本薬投与後の方が低値を示した。

血糖上昇曲線下面積の平均値は、プラセボ投与後の 47.2 ± 24.3 Δ mg·hr/dl と比較して本薬投与後は 20.4 ± 20.0 Δ mg·hr/dl と約40%に減少した。

2) 血中インスリン

本薬投与後またはプラセボ投与後の平均血中インスリン推移を図5に示した。

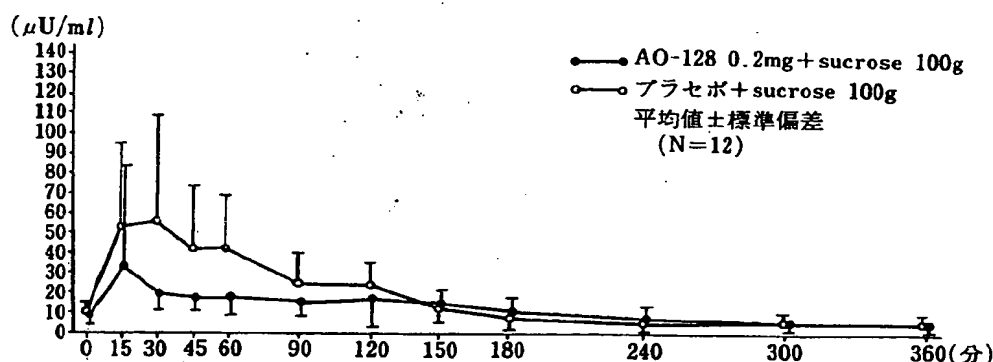


図5 血中インスリン推移

負荷前値は、プラセボ投与前の $10 \pm 5 \mu\text{U/ml}$ に比べ本薬投与前は $7 \pm 2 \mu\text{U/ml}$ とわずかに低値を示した。

sucrose 100 g 負荷後の血中インスリンは、本薬投与後およびプラセボ投与後のいずれの場合も血糖にはほぼ対応した推移を示した。

しかし、本薬投与後の血糖は負荷30分後に最高値に達したのに対し、血中インスリンが最高値に達したのは15分後であった。

血糖と同様に血中インスリン上昇量曲線下面積を比較すると、プラセボ投与後の $62.4 \pm 34.3 \mu\text{U} \cdot \text{hr/ml}$ に対して本薬投与後は $37.5 \pm 27.8 \mu\text{U} \cdot \text{hr/ml}$ と約60%に減少した。

3. 臨床検査

いずれの被験者においても、本薬との関連性を否定できない臨床検査値の異常変動は認められなかった。

4. 消化器症状

表3に示したとおり、lactulose 13 g 負荷後には12名中腹痛および腹膨各1名の計2名で観察されたが、プラセボ投与後には何ら症状は認められなかった。

また、本薬投与後は12名中4名において観察され、内容は軟便2名、下痢および腹部膨満感各1名であったが、いずれも投与終了後速やかに消失した。

III. 考 察

一般に、乳糖分解酵素欠損症などにより糖質の吸収不良が起きた場合、吸収されないまま大腸に到達した糖質は腸内細菌叢による分解を受けて水素、二酸化炭素、メタンなどのガスや酢酸、酪酸などの有機酸を生じるとされており⁶⁾、これらのうち水素ガスは生成量の約10%が呼気中へ排泄されることが報告されている^{6,7)}。

この原理を応用して、ヒトでは吸収されない糖質(lactulose)を投与した際の呼気中への水素ガス排泄量を基準として、未吸収の糖質量あるいは吸収阻害量を推定するいくつかの試みがなされている^{6,7)}。

AO-128 は二糖類水解酵素阻害薬であり、経口投与により小腸に存在する α -glucosidase を阻害して、食物中の糖質由来の glucose 生成を抑えることにより、食後の急峻な血糖上昇を抑制する¹⁾。本薬の血糖上昇抑制の作用機序が吸収阻害によるものであれば吸収されなかった糖質はそのまま大腸へ到達して水素ガスを発生させると考えられる。

これらのことより、本薬投与下に sucrose を摂取した場合の呼気中への水素ガス排泄量と lactulose 投与後の呼気中への水素ガス排泄量との比より、本薬投与により吸収を阻害された sucrose 量を推定し、本薬の血糖上昇抑制の作用機序を明らかにすべく本研究を実施した。

なお、本研究の実施に先立ち本薬の用法および用量ならびに lactulose および sucrose 負荷量を設定すべく、予備的検討を行った。本薬の1回量 0.2 mg, 0.4 mg, 0.5 mg および 1.0 mg の錠剤あるいは溶液を用いた単回投与および反復投与で検討した結果、1回量 0.5 mg 以上では消化器症状が高頻度に発現し、0.4 mg では消化器症状はみられなかったものの症例によっては消化器症状発現が懸念される用量と考えられた。一方、0.2 mg では呼気中への水素ガス排泄は単回投与ではほとんどみられなかったが、反復投与すると認められたので、本薬の用法・用量としては1回量 0.2 mg の反復投与とした。錠剤と溶液の比較ではいずれにおいてもほぼ同程度の水素ガス排泄がみられたので、錠剤を用いることとした。また、lactulose 6.5 g, 10 g および 13 g 負荷と sucrose 75 g および 100 g 負荷を行ったところ、いずれも飲用可能であったため、lactulose および sucrose 負荷量は各々 13 g および 100 g とした。

その結果、呼気水素ガス濃度曲線下面積の比 $AUC(A-P)/AUC(L-P)$ を用いて推定した未吸収 sucrose 量すなわち本薬投与により吸収を阻害された sucrose 量は、負荷した 100 g に対して約 5.0 g に過ぎないと考えられた。したがって、本薬の1回量 0.2 mg 投与による

sucrose の吸収阻害量は極めて少なく、大部分は吸収されたと考えられる。

図4に示したごとく、プラセボ投与後の sucrose 負荷による急峻な血糖の上昇および下降のいずれもが本薬投与後は明らかに抑制され、血糖曲線はなだらかに推移した。また、本薬投与後の最高血糖値あるいは血糖上昇量曲線下面積は、プラセボ投与後と比べて明らかに低下あるいは減少した。すなわち、プラセボ投与後と本薬投与後の sucrose 吸収量には大差ないと考えられるにもかかわらず、本薬投与により明確な血糖上昇抑制が認められた。したがって、本薬の1回量 0.2 mg という用量における血糖上昇抑制の作用機序としては、糖質の吸収阻害が起こっているもののその程度はわずかであると考えられ、むしろわずかな吸収阻害の結果としての吸収遅延によってもたらされるものではないかと推測される。

一方、SD ラットに sucrose 負荷と同時に本薬の高用量 (0.1 mg/kg) または低用量 (0.03 mg/kg) を投与した場合、いずれの用量においても血糖上昇抑制がみられたが、高用量では未吸収のまま大腸に到達した sucrose が認められたのに対し、低用量では負荷した sucrose は大腸では検出されず、すべて小腸で吸収されたと推察される結果が得られている⁹⁾。すなわち、本薬による血糖上昇の抑制は、高用量では主として吸収阻害により、また低用量では小腸上部ないし中部において吸収が軽度阻害された sucrose が、下部まで輸送される間に徐々に消化・吸収された結果としての吸収遅延により引き起こされるもので、ヒトにおける1回量 0.2 mg 投与は SD ラットの低用量に相当するものではないかと考えられる。

血糖上昇量曲線下面積の平均値は、プラセボ投与後に対して本薬投与後は約 40% に減少した。この減少は、glucose 吸収が緩徐になったため肝でのグリコーゲン合成が促進された⁹⁾ 結果として、あるいは取り込まれた glucose が肝および骨格筋などで随時利用された結果として末梢血中の glucose 濃度が上昇するには至らなかったことに基づくのではないかと推測される。

血中インスリンは血糖とはほぼ対応した推移を示し、本薬投与後にはプラセボ投与後と比べて明らかな上昇抑制が認められた。血糖と同様に負荷前値からの上昇量曲線下面積を比較した場合、プラセボ投与後に対して本薬投与後は約 60% に減少した。このことは、glucose 吸収遅延によりインスリン需要量およびインスリン分泌量が減少したことを示すものである。

消化器症状は、プラセボ投与後すなわち摂取した sucrose はすべて吸収され、大腸へ到達した sucrose は

ないものと推定される状況下では認められなかったが、未吸収の糖質が大腸に達し細菌叢による分解を受けたと考えられる本薬投与後および lactulose 負荷後では各々 12 名中 4 名 (軟便 2 名、下痢および腹部膨満感各 1 名) および 12 名中 2 名 (腹痛および腹鳴各 1 名) で認められた。このことより、消化器症状は未吸収の糖質が大腸で細菌叢による分解を受けて発現するものではなからうかと考えられる。

下痢が発現した 1 名においては、未吸収のまま大腸に到達した糖質が腸内細菌叢による分解を受ける間もなく体外へ排出された可能性も否定できないことより、この 1 名を除いた 11 名での集計も行ったところ AUC(A-P) は 98.6 ± 70.8 $\mu\text{g} \cdot \text{hr}$ で、AUC(L-P) は 260.0 ± 136.4 $\mu\text{g} \cdot \text{hr}$ であり、sucrose 吸収阻害量は平均値で 5.3 ± 3.3 g と推定され、全例 12 名での推定量 5.0 ± 3.3 g とほとんど差はなかった。

糖尿病においてはインスリンの絶対的あるいは相対的作用不足が存在し、生体が吸収した glucose を効率よく利用できないことから血糖の上昇をきたし、その結果種々の急性、慢性合併症の発症・進展が惹起される。そこで、本薬投与により食後の急峻な血糖上昇を抑制することによって、糖尿病性合併症の発症・進展のリスクを軽減するものと考えられる。

さらに血中インスリンの上昇を抑制しえたことより、その病態の成因に過剰のインスリン分泌あるいは高インスリン血症の関与が重視されている冠動脈疾患や動脈硬化など¹⁰⁾の発症・進展の阻止につながるものとして本薬の有用性が期待される。

また、sucrose 100 g を摂取した場合の吸収阻害量は約 5.0 g にすぎず大部分は吸収されたと考えられ、本薬の1回量 0.2 mg という用量においては糖質の吸収阻害をほとんど引き起こさず、経口的に摂取したエネルギーのロスはほとんどないものと考えられることより、本薬は、「血糖を上げずに残らず吸収」ともいえるべき糖尿病患者の治療上好ましい薬剤として期待が持てよう。

まとめ

健常人 12 名を対象として、AO-128 投与による未吸収糖質量を呼気水素ガス濃度測定の手法を用いて推定し、血糖上昇抑制の作用機序を明らかにすべく本研究を実施した。

(1) 本薬 0.2 mg 投与により、吸収されなかった sucrose 量は負荷した 100 g に対して約 5.0 g と推定された。

(2) プラセボ投与後と比較して、本薬投与後は血糖お

よび血中インスリンの明らかな上昇抑制が認められた。

(3) 本薬 0.2 mg 投与による血糖上昇抑制の作用機序は、小腸上部ないし中部において吸収が軽度 to 阻害された sucrose が、下部まで輸送される間に徐々に消化・吸収された結果としての吸収遅延によるものと考えられる。

これらの結果より、本薬は糖尿病治療における高い有用性が期待される。

文 献

- 1) 小高裕之, 池田 衡, 松尾隆夫, 他: 二糖類水解酵素阻害剤 AO-128 のラットにおける食後高血糖抑制作用. 日本栄養・食糧学会誌 45:No. 1, 1992 (掲載予定)
- 2) 後藤由夫, 他: α -glucosidase inhibitor, AO-128 のインスリン非依存型糖尿病に対する臨床効果の検討—前期第Ⅱ相試験 (未公表)
- 3) Levitt MD: Production and excretion of hydrogen gas in man. N Engl J Med 281: 122-127, 1969
- 4) Bond JH, Levitt MD: Effect of dietary fiber on intestinal gas production and small bowel transit time in man. Am J Clin Nutr 31: S169-S174, 1978
- 5) Carulli N, Salvioli GF, Manenti F: Absorption of lactulose in man. Digestion 6: 139-145, 1972
- 6) Caspary WF: Sucrose malabsorption in man after ingestion of α -glucosidase inhibitor. Lancet 1: 1231-1233, 1978
- 7) Jenkins DJA, et al: Scope and specificity of acarbose in slowing carbohydrate absorption in man. Diabetes 30: 951-954, 1981
- 8) 武藤泰敏: 消化・吸収—消化管機能の調節と適応, 第一出版, 東京, 1988, pp 178-180
- 9) 小高裕之, 池田 衡, 松尾隆夫, 他: ラットにおける糖質, 蛋白質, 脂質およびビタミンの腸管吸収に及ぼす二糖類水解酵素阻害剤 AO-128 の影響. 薬理と治療 19: 4439-4450, 1991
- 10) Ducimetiere P, et al: Relationship of plasma insulin levels to the incidence of myocardial infarction and coronary heart disease mortality in a middle-aged population. Diabetologia 19: 205-210, 1980

* * *